



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza



UNAM

**“ DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS Y
VALIDACIÓN DE LINDANO EN AGUA POTABLE POR
CROMATOGRFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN “.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER ÉL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

DAVID PACHECO RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: BIÓL. MARICELA ARTEAGA MEJÍA.

MÉXICO, D.F. AGOSTO 2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"**

**JEFATURA DE LA CARRERA DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

ASUNTO: ASIGNACIÓN DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a ustedes como Sinodales del Examen Profesional del (la) señor (ita):

PACHECO RODRÍGUEZ DAVID

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: **"Determinación de Plaguicidas Organoclorados y Validación de Lindano en Agua potable por Cromatografía de Gases de Alta Resolución"**.

Y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE M. en C. A. LOURDES CASTILLO GRANADA

VOCAL BIOL. MARICELA ARTEAGA MEJÍA

SECRETARIO Q. MARTHA TRINIDAD J. OLIVEROS GARCÍA

SUPLENTE Q.F.B. MARIA DEL ROCIO BRECEDA HERNÁNDEZ

SUPLENTE DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ LIRA

(Handwritten signatures on lines)

ATENTAMENTE.
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 México, D.F. a 11 de mayo de 2004:

(Handwritten signature)
Q.F.B. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ
JEFE DE LA CARRERA

ZARAGOZA
JEFATURA DE LA CARRERA
DE Q. F. B.

c.c.p. Departamento de Control de Egresados
 c.c.p. Interesado

ÍNDICE.

	Pág.
ÍNDICE.	i
RESUMEN.	vii
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. MARCO TEÓRICO.	3
2.1 Plaguicidas.	3
2.2 Clasificación.	3
2.2.1 Por su concentración.	3
2.2.2 Por las plagas que controlan.	4
2.2.3 Por su modo de acción.	4
2.2.4 Por su composición química.	4
2.2.5 Por el grupo o familia a la que pertenecen.	5
2.2.6 Por su peligrosidad.	5
2.3 Formulación.	9
2.3.1 Sólidas.	9
2.3.2 Líquidas.	9
2.3.3 Gaseosas.	9
2.4 Usos generales.	10
2.5 Toxicología.	10
2.6 Toxicidad.	11
2.6.1 Regulaciones nacionales e internacionales para plaguicidas.	12
2.7 Lineamientos y convenios internacionales aplicables a plaguicidas. en México.	14

2.8	Ordenamientos jurídicos.	16
2.8.1	Leyes y reglamentos.	16
2.8.2	Normas Oficiales Mexicanas vigentes y en proyecto.	17
2.8.3	Plaguicidas restringidos en México.	17
2.8.4	Plaguicidas prohibidos en México.	18
2.9	Plaguicidas Organoclorados.	18
2.9.1	Toxicología.	19
2.9.2	Límites permitidos en agua potable.	20
2.10	Preparación de muestra.	21
2.11	Métodos de separación.	21
2.12	Extracción.	21
2.13	Extracción líquido – líquido.	22
2.13.1	Campos de aplicación.	25
2.14	Cromatografía.	26
2.14.1	Clasificación.	26
2.14.2	Principio.	27
2.14.3	Procesos de separación.	28
2.14.4	Resultados cromatográficos.	29
2.15	Cromatografía de Gases.	30
2.15.1	Evolución.	30
2.15.2	Ventajas.	31
2.15.3	Sistema cromatográfico.	31

2.15.4	Gas de arrastre.	32
2.15.4.1	Características.	32
2.15.4.2	Selección por tipo de detector.	33
2.15.5	Inyector.	33
2.15.5.1	Tipos.	33
2.15.5.2	Capilar.	34
2.15.6	Columna.	34
2.15.6.1	Clasificación.	34
2.15.6.2	Características.	35
2.15.6.3	Ventajas.	36
2.15.6.4	Tipos de fases estacionarias.	36
2.15.7	Detector.	37
2.15.7.1	Características.	37
2.15.7.2	Clasificación.	38
2.15.7.3	Captura de electrones (ECD).	39
2.15.8	Estación de datos.	41
2.16	Validación de métodos analíticos	42
2.16.1	En Cromatografía de Gases.	42
2.16.2	Evaluación de un método analítico.	43
2.16.3	Parámetros.	44
2.16.4	Características del método.	46
2.16.4.1	Linearidad.	46
2.16.4.2	Precisión para el método.	47

2.16.4.3	Precisión para el sistema.	48
2.16.4.4	Repetibilidad y reproducibilidad del sistema (R & R) tipo II.	48
2.16.4.5	Exactitud.	49
2.16.4.6	Especificidad.	49
2.16.4.7	Límite de detección.	50
2.16.4.8	Límite de cuantificación.	50
2.16.4.9	Rango.	51
2.16.5	Documentación.	51
3.	OBJETIVOS.	57
3.1	Objetivo general.	57
3.2	Objetivos específicos.	57
4.	DISEÑO EXPERIMENTAL.	58
4.1	Bases de la experimentación.	58
4.2	Material, reactivos y equipo.	58
4.3	Metodología.	59
4.3.1	Búsqueda de las condiciones óptimas de operación del cromatógrafo de gases.	59
4.3.2	Verificación del funcionamiento del cromatógrafo de gases.	60
4.3.3	Tiempo de agitación.	61
4.3.4	Método analítico.	61
4.3.4.1	Extracción líquido – líquido.	62
4.3.4.2	Eliminación de interferencias.	63
4.3.4.3	Concentración de la muestra.	64

4.3.4.4	Eliminación de impurezas.	65
4.3.4.5	Análisis cromatográfico.	66
4.3.5	Validación del método analítico.	66
4.3.5.1	Preparación de solución patrón de lindano.	67
4.3.5.2	Linealidad.	68
4.3.5.3	Precisión del método.	69
4.3.5.4	Precisión del sistema.	70
4.3.5.5	Repetibilidad y reproducibilidad.	71
4.3.5.6	Exactitud.	72
4.3.5.7	Especificidad.	73
4.3.5.8	Límite de detección.	73
4.3.5.9	Límite de cuantificación.	73
4.3.5.10	Rango.	73
5.	RESULTADOS.	74
5.1	Análisis cualitativo.	74
5.1.1	Condiciones óptimas de operación del cromatógrafo de gases.	74
5.1.2	Verificación del funcionamiento del cromatógrafo de gases.	75
5.1.3	Tiempo de agitación.	75
5.1.4	Método analítico.	75
5.1.4.1	Extracción líquido – líquido.	75
5.1.4.2	Eliminación de interferencias.	75
5.1.4.3	Concentración de la muestra.	75
5.1.4.4	Eliminación de impurezas.	76

5.1.4.5	Análisis cromatográfico.	76
5.2	Validación del método analítico para lindano.	77
6.	ANÁLISIS DE RESULTADOS.	88
7.	CONCLUSIONES.	89
8.	REFERENCIAS.	90
9	ANEXOS.	94

RESUMEN.

Actualmente existe un gran interés de las instituciones públicas sobre la calidad del agua en nuestro país. El uso indiscriminado de fertilizantes y plaguicidas durante décadas es sin duda una de las principales fuentes de contaminación de los mantos acuíferos superficiales y subterráneos. En consecuencia, diversos grupos de investigación trabajan en la búsqueda de nuevos y mejores métodos analíticos para la determinación de estas sustancias, como una parte del proceso encaminado a identificar y contener tal contaminación.

En el presente trabajo, se muestra un método analítico desarrollado para la determinación de plaguicidas organoclorados, tales como: aldrin, clordano, ddt, dieldrin, epóxido de heptacloro, heptacloro, hexaclorobenceno, lindano y metoxicloro, tomando como base la Norma Oficial Mexicana NOM-AA-71-1981 pero utilizando los recursos existentes en el Laboratorio del Agua de la Comisión del Agua del Estado de México, dando como resultado un método rápido, sencillo y con una relación costo – eficiencia más favorable que el método que establece la Norma antes mencionada.

Se utiliza la extracción en fase líquida, ya que esta técnica se ha destacado como una herramienta analítica rápida, económica y versátil apropiada para la determinación de microcomponentes de distinta naturaleza. La extracción en fase líquida permite realizar fácil y selectivamente los componentes de la muestra durante el análisis de plaguicidas, así como la reducción de la cantidad de solvente necesario para la concentración de los analitos, cantidad que en algunos casos llega a ser más tóxica que las trazas de contaminantes a determinar. En el trabajo experimental también se empleó la Cromatografía de Gases debido a su alta eficiencia y reproducibilidad en columnas capilares de sílica fundida, además de su alta sensibilidad a los plaguicidas organoclorados se utiliza el Detector de Captura de Electrones (ECD).

Para la realización de la validación del método se recurre a la determinación de lindano demostrando así, a un observador crítico que el método proporciona información (datos) de la sensibilidad, exactitud y precisión, además de que un método analítico eficiente se basa en el mejor juicio científico del analista, y por lo tanto utiliza la instrumentación adecuada y las técnicas disponibles.

Por otra parte se utiliza el diseño estadístico de experimentos para inducir cambios deliberados en los factores estudiados y establecer las condiciones óptimas de trabajo en términos de sensibilidad analítica. También se utiliza la técnica de regresión por mínimos cuadrados, herramienta selectiva y fiable en el análisis cuantitativo de muestras complejas, la cual permite la determinación simultánea de los diferentes plaguicidas estudiados mediante la Cromatografía de Gases de Alta Resolución en muestras de agua potable.

1. INTRODUCCIÓN.

La contaminación del agua por residuos de plaguicidas organoclorados, es consecuencia directa o indirecta del uso de dichas sustancias para el control de las plagas y enfermedades que afectan a los cultivos desde que estos inician su crecimiento, su recolección; así como también en su almacenamiento.

Se estima que alrededor del 65 % del consumo nacional de plaguicidas se aplica en los cultivos de algodón, maíz, sorgo, soya, caña de azúcar, arroz, hortalizas y pastos; cantidades importantes de plaguicidas se aplican también en el combate de los vectores transmisores de enfermedades al hombre y a los animales que se destinan para el consumo humano; así como para controlar las plagas en el hogar, la industria y otras áreas (Semarnap – Serie 1, 1996).

Considerando que el mayor volumen de los plaguicidas se destina a la producción agrícola, es preciso señalar que la aplicación indiscriminada y descuidada de estas sustancias provoca daños al ambiente, deteriora la flora y fauna silvestre, contamina los suelos, mantos freáticos, aguas continentales y costeras, se propicia la generación de plagas resistentes y lo más importante, por sus características de bioacumulación y de transporte a través de la cadena alimenticia llegan al hombre (Semarnap – Serie 2, 1996).

El uso y manejo inadecuado de los plaguicidas ha demostrado ser de alto riesgo para el hombre, este riesgo se manifiesta por intoxicación de grado diverso y por efectos que pueden presentarse a mediano y a largo plazo, tales como carcinogénesis, teratogénesis, esterilidad, mutagénesis y otros, por lo que precisan un seguimiento exhaustivo (Semarnap – Serie 2, 1996).

Este trabajo se realizó como consecuencia de la baja eficiencia del método que se utilizaba para cuantificar plaguicidas, ya que el método que marca la Norma Oficial Mexicana (NOM-AA-71-1981) indica el uso de una columna empacada de 180 cm de longitud y un diámetro interno de 4 mm; con este tipo de columnas no es posible cuantificar los plaguicidas del agua potable ya que se encuentran en cantidades tan bajas que se puede hablar del orden de nanogramos e incluso de picogramos, además de tener una deficiente resolución con respecto a una mezcla compleja, ya que no se logra la separación del DDT y del Metoxicloro.

Por otra parte el método indicado en dicha norma resulta demasiado complejo en la preparación de la muestra desde la extracción hasta la concentración de la misma.

En el Laboratorio del Agua de la Comisión del Agua del Estado de México se desarrolló un método analítico que permite identificar estas sustancias que pueden presentarse a nivel de trazas en muestras de agua potable. La técnica de cromatografía de gases utilizando columnas capilares resulta ser efectiva para obtener una buena separación de mezclas complejas; así como para cuantificar niveles de trazas.

Se considera que el método analítico desarrollado en este laboratorio es específico para determinar algunos de los plaguicidas organoclorados como son: Hexaclorobenceno, Lindano, Heptacloro, Epóxido de heptacloro, Aldrín, Metoxicloro, Dieldrín, DDT y Clordano.

Este método toma como punto de partida la Norma Oficial Mexicana antes mencionada utilizando los recursos del Laboratorio del Agua de la Comisión del Agua del Estado de México, además de la extracción líquido-líquido, Cromatografía de Gases con columna capilar específica para estas sustancias y el Detector de Captura de Electrones por su alta afinidad a los halógenos. El método fue validado para demostrar a un observador crítico, que provee datos de sensibilidad específica, exactitud, precisión, además de ser un método analítico eficiente y confiable, además de cumplir con los criterios de aceptación que son requeridos para la validación de un método analítico.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 Plaguicidas.

Uno de los principales factores limitantes de la producción agrícola y de la calidad de las cosechas lo constituyen las enfermedades y las plagas, las cuales atacan los cultivos desde que las plantas inician su crecimiento hasta su recolección y aún en los almacenes. La importancia económica que tienen los plaguicidas en la producción agrícola estriba en que sin su utilización se presentan pérdidas considerables producidas por las plagas, tanto en el campo como en su almacenamiento, estas pérdidas ocasionan un déficit en la disponibilidad nacional de alimentos y materias primas para satisfacer la demanda de la industria, creando la necesidad de importar volúmenes considerables de ellos, con la consiguiente salida de divisas. Se estima que alrededor del 65 % del consumo nacional de plaguicidas se aplica en los cultivos de algodón, maíz, sorgo, soya, caña de azúcar, arroz, hortalizas y pastos; cantidades importantes de plaguicidas se aplican también en el combate de los vectores transmisores de enfermedades al hombre y a los animales que se destinan para el consumo humano, así como para controlar las plagas en el hogar, en la industria y en otras áreas (Semarnap – Serie 1, 1996).

No obstante la importancia económica que tienen estos productos, es necesario destacar los efectos adversos al ambiente y a la salud.

Considerando que el mayor volumen de los plaguicidas se destina a la producción agrícola, es preciso señalar que la aplicación indiscriminada y descuidada de estas sustancias provoca daños al ambiente: deterioro de la flora y fauna silvestre, contaminación de suelos, contaminación de mantos freáticos y de las aguas continentales y costeras; se propicia la generación de plagas resistentes; y lo más importante, por sus características de bioacumulación y de transporte a través de la cadena alimenticia, llegan al hombre.

Plaguicida

Es una sustancia o mezcla de sustancias que se utiliza para controlar cualquier plaga, incluidos los vectores de enfermedades humanas y animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con el mejor aprovechamiento de la producción agropecuaria y forestal (almacenamiento y transporte), de los bienes materiales, así como las que interfieren con el bienestar del hombre y de los animales, se incluyen las sustancias defoliantes y las desecantes (Semarnap – Serie 1, 1996).

2.2 Clasificación (Semarnap – Serie 1, 1996).

2.2.1 Por su concentración.

- * Principio activo.- Compuesto químico que ejerce la acción plaguicida.
- * Plaguicida técnico.- La máxima concentración del principio activo obtenida como resultado final de su fabricación, de la cual se parte para preparar un plaguicida formulado.
- * Plaguicida formulado.- Mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes inertes, cuyo objeto es dar estabilidad al principio activo o hacerlo útil y eficaz; constituye la forma usual de aplicación de los plaguicidas.

2.2.2 Por las plagas que controla, el principio activo puede ser:

- * Insecticida.
- * Acaricida.
- * Funguicida.
- * Bactericida antibiótico.
- * Herbicida.
- * Nemátocida.
- * Rodenticida.
- * Molusquicida.

2.2.3 Por su modo de acción, el principio activo puede ser:

- * De contacto (que mata, principalmente al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga).
- * De ingestión (debe ser ingerido por la plaga para ser efectivo).
- * Sistémico (al aplicarse en plantas o animales, se absorbe y traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que se aplica).
- * Fumigante (se difunde en estado gaseoso penetrando por todas las vías de absorción).
- * Repelente (impide que las plagas se acerquen, evitando así su ataque).
- * Defoliante (causa la caída del follaje de las plantas).

2.2.4 Por su composición química, los principios activos son:

- * Compuestos inorgánicos.- Estos carecen de carbono y generalmente se derivan de la simple extracción de los minerales, por ejemplo los compuestos de cobre, azufre, zinc y aluminio.
- * Compuestos orgánicos.- Son aquellos que contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético o generados a partir de compuestos químicos básicos. Algunos son extraídos de ciertas plantas por lo que son designados como botánicos. Los compuestos orgánicos sintéticos utilizados como plaguicidas forman grupos o familias químicas, cada grupo contiene compuestos con algunas características comunes y en cualquiera de ellos puede haber insecticidas, acaricidas, herbicidas y funguicidas.

2.2.5 Los plaguicidas también se clasifican de acuerdo al grupo o familia a la que pertenecen (Semarnap – Serie 1, 1996).

GRUPO	COMPUESTO	PLAGUICIDA
1	Organoclorados	Clordano, Endosulfan, Lindano, Clorobencilato, DDT, Metoxicloro, Dicofol, Toxafebo, Hexaclorobenceno, Heptacloro, Epóxido de heptacloro, Aldrin, Dieldrín, Alfa clordano, etc.
2	Organofosforados	Diazinon, Ethion, Fention, Coumafós, EPN, Fonofos, etc.
3	Carbamatos	Aldicarb, Cendiocarb, Carbarilo, Carbofuran, Metomilo, Propoxur, Primicarb, Tiodicarb.
4	Piretroides	Piretrinas, Aletrina, Ciflutrin, Cipermetrina, Deltametrina, Fenvalerato, Flumetrina, Permetrina, Tetrametrina.
5	De origen botánico	Nicotina, Sabadilla, Anabasina y Rotenona.
6	Biológicos	Piretrinas.
7	Compuesto de cobre	N.D
8	Tiocarbamatos	Dietilditiocarbamato (Imunthiol, DTC), Tiocarbamal morfoliditiocarbamato (M-DTC)
9	Ftalimidas	Captan, folpen
10	Carboxamidas	Lucaptan
11	Carboximidias	Funcap 50 PH
12	Guanidinas y naftoquinonas	Difenilguanidina, Dodex 450 C, Dodine
13	Órganoestánicos	Cihexatin.
14	Orgánicos sulfurados	N.D
15	Clorofenoxi	Ácido 2 -metil-4-clorofenoxi-4-butirico
16	Dinitrofenoles	2,4-Dinitrofenol (DNP)
17	Derivados de la urea	N.D
18	Triazinas	Deltrametrina
19	Derivados de los ácidos tricloroacético y tricloropicolinico	N.D
20	Bipiridílicos	Paraquat, Diquat y Morfamquat.

N.D = No disponible.

Tabla 1. Clasificación de plaguicidas por grupo o familia.

2.2.6 Por su peligrosidad.

La clasificación de los plaguicidas según su peligrosidad, es recomendada por la Vigésima Octava Asamblea de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El peligro a que hace referencia esta recomendación, estriba en el riesgo agudo para la salud por la exposición única o múltiple a una sustancia por un periodo de tiempo relativamente corto a la que puede ser expuesta cualquier persona que la manipule de acuerdo a las instrucciones del fabricante, o según las reglas establecidas para su transporte y almacenamiento adecuado (Semarnap – Serie 1, 1996).

El criterio para la clasificación se basa principalmente en la toxicidad aguda oral o dérmica, para la rata, por ser este el procedimiento en toxicología.

A continuación se presenta la clasificación por su peligrosidad.

Clase	D _{L50} (rata) mg / Kg de peso corporal				C _{L50} Aguda por inhalación mg / L Exposición: 1 hora
	Aguda – Oral		Aguda – Dérmica		
	Estado físico		Estado físico		
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido	
I Extremadamente peligroso	5 ó menos	20 ó menos	10 ó menos	40 ó menos	Hasta 0.2
II Altamente peligroso	5 a 50	20 a 200	10 a 100	40 a 400	Más de 0.2 hasta 2
III Moderadamente peligroso	50 a 500	200 a 2000	100 a 1000	400 a 4000	Más de 2 hasta 20
IV Ligeramente peligroso	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 4000	Más de 20

Tabla 2. **Criterio para la clasificación por su peligrosidad** (Semarnap – Serie 1, 1996).

Notas:

D_{L50} Aguda – Oral:

Es la cantidad de una sustancia administrada una sola vez por vía oral que causa la muerte del 50% de la población de las ratas de prueba bajo condiciones establecidas. Se expresa en miligramos por kilogramo de peso corporal (Semarnap – Serie 2, 1996).

D_{L50} Aguda – Dérmica:

Es la cantidad de una sustancia aplicada dérmicamente por una sola vez que causa la muerte del 50% de la población de las ratas de prueba bajo condiciones establecidas. Se expresa en miligramos por kilogramo de peso corporal (Semarnap – Serie 2, 1996)

C_{L50} Aguda por inhalación:

Es la concentración de una sustancia en el aire que causa la muerte del 50% de la población de las ratas de prueba bajo condiciones establecidas. Se expresa en mg/L ó en ppm en el aire por exposición durante una hora o menos si la muerte ocurre antes (Semarnap – Serie 2, 1996).

A continuación se presenta la clasificación de acuerdo a su grado de peligrosidad.

Nombre común	Estado físico	Vía de absorción	D _{L50} mg / Kg.	IDA mg / Kg.
Aldicarb	Sólido	Oral	0.93	0.0001
Cihexatin	Sólido	Oral	540	N.D
Coumafos	Líquido	Oral	16	0.0005
Clorfenvinfos	Líquido	Oral	10	0.002
Clorobencilato	Sólido	Oral	700	N.D
Dicofol	Sólido	Oral	690	N.D
Disulfoton	Líquido	Oral	2.6	0.002
EPN	Líquido	Oral	14	0.005
Fonofos	Líquido	Oral	8	N.D
Forato	Líquido	Oral	2	0.0002 (1985)
Fosfamidon	Líquido	Oral	17	0.001 (1985)
Mevinfos	Líquido	Oral	4	0.0015
Paration etílico	Líquido	Oral	13	0.005
Paration metílico	Líquido	Oral	14	0.002
Terbufos	Líquido	Oral	2	N.D

Tabla 3. Insecticidas y acaricidas extremadamente peligrosos (Cicoplafest, 1995).

Nombre común	Estado físico	Vía de absorción	D _{L50} mg / Kg.	IDA mg / Kg.
Aletrina	Líquido	Oral	480	N.D
Azinfos metílico	Sólido	Oral	16	0.0025
BHC	Sólido	Oral	100	0.01
Carbofenotion	Líquido	Oral	32	0.0005
Carbofuran	Sólido	Oral	8	0.01
Diclorvos	Líquido volátil	Oral	56	0.004
Dicrotofos	Líquido	Oral	22	0.006
Dioxation	Líquido	Oral	23	0.0015
Etoprofos	Líquido	Oral	61.5	N.D
Flucitrinato	Líquido	Oral	67	N.D
Isofenfos	Aceite	Oral	28	0.0005 (1987)
Metamidofos	Líquido	Oral	30	0.0004 (1985)
Metidation	Líquido	Oral	25	0.005
Metomilo	Sólido	Oral	17	N.D
Monocrotofos	Líquido	Oral	23	0.006

Tabla 4. Insecticidas y acaricidas altamente peligrosos (Cicoplafest, 1995).

Nombre común	Estado físico	Vía de absorción	D _{L50} mg / Kg.	IDA mg / Kg.
Carbarilo	Sólido	Oral	300	0.01
Clordano	Líquido	Oral	460	0.001
DDT	Sólido	Oral	113	0.02
Diazinon	Líquido	Oral	300	0.002
Dimetoato	Sólido	Oral	150	0.002 (1987)
Etion	Líquido	Oral	208	0.001 (1985)
Fention	Líquido	Oral	300	0.001
Lindano	Sólido	Oral	100	0.001
Piretrinas	Líquido	Oral	500 – 1000	N.D
Propargite	Sólido	Oral	2200	N.D
Profenofos	Líquido	Oral	358	N.D
Rotenona	Sólido	Oral	1500	N.D
Toxafeno	Sólido	Oral	80	0.000014

Tabla 5. Insecticidas y acaricidas moderadamente peligrosos (Cicoplafest, 1995).

Nombre común	Estado físico	Vía de absorción	D _{L50} mg / Kg.	IDA mg / Kg.
Bacillus thuringiensis	Sólido	Oral	N.D	N.D
Cipermetrina	Sólido	Oral	4000	0.05
Deltametrina	Sólido	Oral	9330	0.01
Metoxicloro	Sólido	Oral	6000	N.D
Permetrina	Líquido	Oral	4000	0.03
Temefos	Líquido	Oral	8600	N.D

Tabla 6. Insecticidas y acaricidas ligeramente peligrosos (Cicoplafest, 1995).

Nombre común	Estado físico	Vía de absorción	D _{L50} mg / Kg.	IDA mg / Kg.
Bacillus thuringiensis	Sólido	Oral	N.D	N.D
Cipermetrina	Sólido	Oral	4000	0.05
Deltametrina	Sólido	Oral	9330	0.01
Metoxicloro	Sólido	Oral	6000	N.D
Permetrina	Líquido	Oral	4000	0.03
Temefos	Líquido	Oral	8600	N.D

Tabla 7. Insecticidas y acaricidas prácticamente atóxicos bajo condiciones normales de manejo (Cicoplafest, 1995).

Notas:

D_{L50} = Dosis letal media. IDA = Ingestión diaria admisible en mg / Kg de peso corporal.

2.3 Formulación de plaguicidas (Semarnap – Serie 1, 1996).

Las formulaciones comerciales de los plaguicidas pueden presentarse como sólidos (polvos y granulados), líquidos y gases.

2.3.1 Formulaciones sólidas:

Las formulaciones sólidas pueden tener las siguientes presentaciones:

- | | |
|------------------------|--------------------------|
| • Sólido técnico | Gránulo fino concentrado |
| • Polvo técnico | Gránulo soluble |
| • Polvo | Pasta sólida técnica |
| • Polvo humectable | Perdigones o comprimidos |
| • Polvo micronizado | Micro - encapsulados |
| • Polvo soluble | Cebo envenenado |
| • Tabletas o pastillas | Bloque parafinado |
| • Gránulo técnico | Collares |
| • Granulado o gránulo | Aretes |
| • Gránulo dispersable | Jabón |

2.3.2 Formulaciones líquidas:

Pueden ser:

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| • Líquido técnico | Solución concentrada |
| • Líquido solo para coadyuvante | Solución concentrada técnica |
| • Líquido viscoso técnico | Concentrado emulsionable |
| • Líquido soluble | Emulsión o dispersión |
| • Líquido miscible | Pasta gelatinosa |
| • Suspensión acuosa | Concentrado para ultra bajo volumen |
| • Solución acuosa | |

2.3.3 Formulaciones gaseosas.

Son gases licuados o comprimidos.

2.4 Usos generales (Semarnap – Serie 1, 1996).

Los plaguicidas son utilizados en diferentes áreas, dentro de las cuales se encuentran:

★ Agrícola.

En sistemas de producción agrícola, productos y subproductos de origen vegetal.

★ Forestal.

Bosques y maderas.

★ Urbana.

Ciudades y zonas habitacionales, por ejemplo en edificios; no incluye el uso doméstico.

★ Jardinería.

Jardines y plantas de ornato.

★ Pecuaria.

En animales o instalaciones de producción intensiva o extensiva cuyo producto será destinado al consumo humano, a usos industriales, incluye el uso en animales domésticos.

★ Doméstica.

Casa habitación.

★ Industrial.

En el procesamiento de productos y subproductos, así como para el cuidado de áreas industriales.

2.5 Toxicología (Cicoplafest, 1995).

Es la disciplina que se ocupa del estudio de los efectos tóxicos de las sustancias en los organismos.

Actualmente, se conoce un sin número de sustancias tóxicas, entre las cuales se encuentran los plaguicidas, que tiene la capacidad inherente de provocar efectos adversos en los seres vivos, de dañar su estructura o funciones, y de provocar su muerte. Su toxicidad depende, entre otros aspectos, de:

- ★ Factores Tales como absorción, distribución, almacenamiento, activación, detoxificación que influyen en la reacción de su forma tóxica final con el sitio “blanco” (ya sea molécula, célula, tejido, órgano o sistema).
- ★ Reacción Reversible o irreversible) con los sitios blanco.
- ★ Consecuencias bioquímicas o fisiológicas.
- ★ Expresión clínica de su toxicidad (efectos agudos y crónicos).

Tales efectos son función, además, de la magnitud y duración de la exposición al plaguicida, así como de su vía de ingreso al organismo (oral, dérmica o inhalación). En teoría, los organismos son capaces de tolerar pequeñas dosis de los plaguicidas gracias a la existencia de mecanismos de homeostasis o compensación fisiológica, que incluyen la detoxificación metabólica, la adaptación celular y la reparación. Por ello, se identifica un umbral por debajo del cual no se observan efectos adversos aparentes, en las curvas que relacionan la dosis y los efectos. Por arriba de esa dosis umbral, los mecanismos de compensación se saturan y dan lugar a la producción de alteraciones en diferentes órganos o sistemas, variando la dosis umbral para cada uno de ellos, y siendo afectados en diverso grado de severidad. Otros factores influyen también en la toxicidad de los plaguicidas, como son la edad, el sexo, el estado nutricional y de salud de los individuos expuestos (Cicoplafest, 1995).

Cuando el daño ocurre en un sitio distante del lugar de ingreso del plaguicida al organismo, se habla de toxicidad sistémica para diferenciarla de la tóxica que ocurre en el sitio de contacto. La gama de daños neurológicos, nefrotóxicos, cardiovasculares, gástricos y teratogénicos, entre otros que pueden producir los plaguicidas, varía de acuerdo con los diversos tipos de éstos y la severidad de la exposición y el período de la vida del individuo en la que ocurre (SEMARNAP- Serie 1, 1996; Cicoplafest, 1998).

Es importante señalar que aún los plaguicidas más tóxicos no ofrecen riesgo si se siguen con cuidado las buenas prácticas que se aconsejan para su manejo.

2.6 Toxicidad (Cicoplafest, 1995).

El método aceptado para medir la toxicidad relativa de una sustancia, es el valor de la dosis letal 50 (D_{L50}). Esta es una estimación estadística de la cantidad de dicha sustancia para matar al 50 % de una población de animales de prueba bajo condiciones establecidas.

Los valores de la D_{L50} se expresan en miligramos de la sustancia por kilogramo de peso corporal del animal de prueba. Así, la dosis de la sustancia para matar a un caballo de 1000 Kg será 10 veces mayor que para matar a un potro que pese 100 Kg.

Los animales de prueba pueden ser ratas, perros, pájaros o peces, pero muy raras veces se conoce información de la D_{L50} para humanos. Los valores de la D_{L50} son seriamente afectados por la edad de los animales de prueba y de las cepas de la misma especie ya que pueden reaccionar de manera muy diferente al mismo tratamiento. Por esta razón, los valores de la D_{L50} obtenidos para una especie, sólo empiezan a ser confiables después de haber realizado varias pruebas por distintos investigadores y bajo distintas condiciones.

Debida a la acción selectiva de los plaguicidas, las diferentes especies de animales reaccionan de modo diferente a ellos, a tal grado que esta propiedad les confiere a los plaguicidas la utilidad que tienen. Así, los valores de la D_{L50} para ratas o perros tienen poca relación con la D_{L50} para pájaros o para humanos. Los valores de la D_{L50} son muy útiles para clasificar a los plaguicidas por su toxicidad, siempre y cuando se reconozca que los valores no son absolutos y que deben expresarse dentro de ciertos límites.

El uso y manejo inadecuado de los plaguicidas ha demostrado ser riesgoso para el hombre, este riesgo se manifiesta por intoxicación de grado diverso y por efectos que pueden presentarse a mediano o a largo plazo, tales como carcinogénesis, teratogénesis, esterilidad, mutagénesis y otros.

2.6.1 Regulaciones nacionales e internacionales para plaguicidas (Semarnap – Serie 3, 1996).

Para obtener los beneficios de la aplicación de los plaguicidas, sin que se produzcan efectos adversos en la salud humana y el ambiente, es preciso contar con un esquema integral de gestión en el que intervengan diversos actores entre los cuales se encuentran las autoridades gubernamentales.

Entre las responsabilidades de los gobiernos están:

- 1.- Fomentar una alta prioridad y asignar recursos suficientes a la tarea de regular eficazmente la disponibilidad, distribución y utilización de plaguicidas.
- 2.- Tomar las medidas inmediatas para introducir la legislación necesaria para la reglamentación, incluido el registro de plaguicidas y el adoptar disposiciones para su cumplimiento efectivo, incluyendo el establecimiento de los correspondientes servicios de enseñanza, asesoramiento, extensión y atención de salud.
- 3.- Proporcionar atención especial a la redacción de reglamentos y normas que regulan la disponibilidad de plaguicidas con base en los niveles de capacidad y conocimientos técnicos sobre la manipulación y uso adecuado, con objeto de incidir en los usuarios a los que destinan.

Las organizaciones internacionales deben facilitar información sobre plaguicidas específicos, además de dar orientación sobre métodos de análisis mediante documentos de criterio, hojas de datos, sesiones de capacitación, etc.

Entre las regulaciones internacionales que se enfocan a plaguicidas se encuentran:

- * 1980 GLP (Buenas Prácticas de Laboratorio). 1989 Regulaciones GLP para sustancias tóxicas (TSCA), Insecticidas, Funguicidas y Rodenticidas (FIFRA). Estados Unidos de Norteamérica
- * ISO 14000.
Estándares Internacionales para el ambiente (protección al ambiente, estimación y ciclos de vida).
- * 1982 GPP's Publicado por The Ministry of Health and Welfare (MOHW), aplicable a partir de 1983 para seguridad toxicológica y salud. En 1983 el Ministerio de Agricultura, Selvicultura y Pesca publicó artículos acerca de estudios para toxicología y agroquímicos. Japón.
- * Legislación mexicana.

En cuanto a la legislación mexicana, las autoridades con competencia en la materia son:

- * Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP).
- * Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS).
- * Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (Sagar).
- * Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (Secofi).
- * Secretaría de Desarrollo Social (Sedesol).
- * Secretaría de Salud (Ssa).
- * Secretaría de Comunicaciones y Transportes (SCT).
- * Secretaría de Marina (Sedemar).
- * Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (Cicoplafest).

Cada institución es responsable del control de las diferentes etapas del ciclo de vida de los plaguicidas entre las que se encuentran la fabricación, comercialización, venta, transporte, uso y disposición final de los desechos y contenedores (Semarnap – Serie 4, 1996). En el Anexo I, se señala la función de cada instancia.

La Cicoplafest fue creada a través del decreto publicado en el Diario Oficial de la Federación (DOF) el día 15 de Octubre de 1987, en el que se establecen las bases de coordinación que las secretarías de Comercio y Fomento Industrial, Agricultura y Recursos Hidráulicos (actualmente Sagar), Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología – SEDUE (actualmente Semarnap) a través del Instituto de Ecología (INE) y la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (Profepa) y Salud; deberán observar en relación con plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas (Semarnap – Serie 4, 1996).

El objetivo central de la Cicoplafest es realizar actividades coordinadas de regulación y control de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, así como agilizar la expedición de registros y autorizaciones de importación de los mismos, asegurando que los productos cumplan con los requisitos internacionales de calidad, al mismo tiempo que evita el uso en México de sustancias de alto riesgo que puedan causar daño al ambiente o a la salud de la población (Semarnap – Serie 4, 1996).

La Cicoplafest incluye en su estructura y funcionamiento la participación de otros sectores interesados, dentro de un Comité Consultivo, para facilitar el cumplimiento de las disposiciones de la nueva Ley Federal de Metrología y Normalización, relativas a la emisión de Normas Oficiales Mexicanas (NOM's) que integren los contenidos básicos de las Normas Técnicas Sanitarias (NTS's) y Normas Técnicas Ecológicas (NTE's) en materia de productos químicos elaborados conjuntamente con los industriales y el apoyo de otros sectores como el académico (Semarnap – Serie 4, 1996).

Algunos ejemplos de estas normas se enlistan en el Anexo II.

2.7 Lineamientos y convenios internacionales aplicables a plaguicidas en México.

En el marco internacional México se ha adherido o ha suscrito los siguientes lineamientos y convenios aplicables a plaguicidas:

- * **Código Internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma 1985.**

El Código tiene como objetivos generales: enunciar las responsabilidades y establecer normas de conducta de carácter voluntario para todas las entidades públicas y privadas que intervienen o influyen en la distribución y utilización de plaguicidas y fomentar la cooperación entre los gobiernos y los países exportadores, para promover prácticas que aseguren el uso eficaz y seguro de los plaguicidas, reduciendo al mínimo sus riesgos para la salud y el ambiente, que pueden derivar de una manipulación o utilización impropia (Semarnap – Serie 4, 1996).

- * **Directrices de Londres para el intercambio de información acerca de productos químicos objeto de comercio Internacional. Enmendada en 1989.**

Su objetivo es auxiliar a los gobiernos en actividades encaminadas a incrementar la seguridad en relación con los productos químicos (incluyendo a los plaguicidas) en todos los países mediante el intercambio de información sobre éstos. Establecen las Bases del Procedimiento de Información y Consentimiento Previos (PICP), para facilitar a los gobiernos importadores la decisión relativa a aceptar o rechazar la importación de sustancias prohibidas o severamente restringidas en el país exportador por motivos de salud o ambientales (Semarnap – Serie 4, 1996).

- * **Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación. Naciones Unidas. 1989.**

Cuyos objetivos son: A) reducir el movimiento transfronterizo de desechos sometidos al Convenio a un mínimo compatible con la gestión eficiente y ambientalmente racional de los mismos; B) reducir al mínimo la cantidad y toxicidad de los desechos peligrosos generados y garantizar su manejo ambientalmente racional tan cerca como sea posible de la fuente de generación; C) asistir a los países en desarrollo en el manejo ambientalmente racional de los desechos peligrosos y de otro tipo que generen (Semarnap – Serie 4, 1996).

- * **Protocolo de Montreal relativo a las sustancias agotadoras de la capa de ozono. 1987.**

Establece como objetivo proteger la capa de ozono, adoptando medidas preventivas para controlar las emisiones mundiales de las sustancias que la agotan.

El Protocolo se aplica en el marco del Convenio de Viena, el cual adoptó en la reunión de las partes la incorporación en la lista de sustancias al plaguicida bromuro de metilo, teniendo los países en desarrollo como compromiso la congelación de su empleo para el año 2002 a los niveles promedio de 1995 a 1998 (Semarnap – Serie 4, 1996).

✱ **Agenda 21 de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Ambiente y Desarrollo. 1992.**

En su capítulo 19, sobre el manejo sustentable de las sustancias químicas, la Agenda 21 propone el desarrollo de seis áreas programáticas que incluyen:

- ♦ La expansión y aceleración de la evaluación internacional de los riesgos de los productos químicos.
- ♦ La armonización de la clasificación y etiquetado de los productos químicos.
- ♦ El intercambio de información sobre productos químicos tóxicos y el riesgo que entrañan los productos químicos.
- ♦ La organización de programas de reducción de riesgos.
- ♦ El fomento de la capacidad y los medios nacionales para la gestión de los productos químicos.
- ♦ La prevención del tráfico ilícito de productos tóxicos.

(Semarnap – Serie 4, 1996).

✱ **Plan Integral Ambiental Fronterizo 1992-1994 / Programa Frontera XXI.**

En el marco del Convenio de Cooperación Ambiental Suscrito con los Estados Unidos en la Paz, Baja California en 1983, el Programa Integral Ambiental Fronterizo (PIAF) establece como objetivo proporcionar protección a largo plazo a la salud humana y a los ecosistemas naturales en la frontera de México y los Estados Unidos. El PIAF incluyó como una de las metas, el intercambio de información sobre las implicaciones del uso de plaguicidas así como el desarrollo de programas de cooperación para ayudar en la capacitación de agricultores, fumigadores y distribuidores acerca del uso y disposición adecuados de los productos químicos empleados en la agricultura, además de trabajar conjuntamente en el análisis de productos químicos, capacitación de especialistas y el manejo de programas bilaterales de garantía de calidad. En la actualidad, el PIAF se ha transformado en el Programa Frontera XXI (Semarnap – Serie 4, 1996).

✱ **Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLC). 1994.**

En lo referente a las medidas de normalización, el Tratado establece las funciones, integración mecánica y calendario del Comité de Medidas Relativas a la Normalización, señalando entre los asuntos a considerar, los relativos a: criterios para la evaluación de daños potenciales de ciertos bienes al ambiente; la metodología para la evaluación del riesgo; los lineamientos para realizar pruebas de sustancias químicas, incluidas las del tipo industrial y las de uso agrícola, farmacéutico y biológico. (Semarnap – Serie 4, 1996).

✱ **Resolución 95-5 de la Comisión de Cooperación Ambiental. 1995.**

La resolución permite sentar las bases de cooperación regional para dar cumplimiento a los compromisos contraídos en el Acuerdo de Cooperación Ambiental de América del Norte relacionado con el TLC, como en respuesta de las disposiciones contenidas en capítulo 19 de la Agenda 21 de las Naciones Unidas, sobre el manejo sustentable de las sustancias químicas. Dentro de sus planes de acción se encuentra la eliminación virtual de 12 compuestos orgánicos persistentes identificados en la decisión 18/32 del Consejo del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) en mayo de 1995, entre los que se encuentran diversos plaguicidas como el DDT y el clordano (Semarnap – Serie 4, 1996).

✱ **Organización de Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE).**

La OCDE establece como objetivos básicos: la clarificación de los problemas económicos, ambientales y sociales, a través de análisis cualitativos y cuantitativos realizados en sus países miembros; intercambiar información de cómo los problemas han venido siendo abordados en cada país, para que la experiencia de unos pueda servir de apoyo a las acciones de otros; hacer que los países estén alertas al impacto de sus acciones en los otros; investigar para encontrar estrategias o soluciones comunes; analizar y evaluar la efectividad de las políticas económicas, sociales y ambientales de sus países miembros. Entre las actividades que se desarrollan en el área ambiental, se encuentran las relativas a sustancias químicas, entre las que destacan las que promueven el Foro de Plaguicidas; la armonización de la clasificación, etiquetado, lineamientos de prueba y principios GLP aplicados a los plaguicidas; así como a la reducción de sus riesgos (Semarnap – Serie 4, 1996).

2.8 Ordenamientos jurídicos (Semarnap – Serie 4, 1996).

Los plaguicidas se encuentran regulados por disposiciones ambientales, sanitarias, fito y zoonosanitarias, laborales y de autotransporte. Así mismo, de manera indirecta diversas disposiciones aduanales y de comercio exterior establecen disposiciones que deben ser observadas en el manejo de plaguicidas. Estas leyes, reglamentos y normas se enumeran a continuación:

2.8.1 Leyes y reglamentos (Semarnap – Serie 4, 1996).

- ✱ Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (Reglamento en Materia de Impacto Ambiental y Reglamento en Materia de Residuos Peligrosos).
- ✱ Ley General de Salud (Reglamento en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y servicios).
- ✱ Ley Federal del Trabajo (Reglamento General de Seguridad e Higiene en el trabajo).
- ✱ Ley Federal de Sanidad Vegetal.
- ✱ Ley General de Sanidad Animal.
- ✱ Ley de Caminos, Puentes y Autotransporte Federal (Reglamento de Autotransporte Terrestre de Materiales y Residuos Peligrosos).
- ✱ Ley de Comercio Exterior
- ✱ Ley Aduanera

2.8.2 Normas Oficiales Mexicanas vigentes y en proyecto (Semarnap – Serie 4, 1996).

- * Ecológicas.
- * Sanitarias.
- * Zoosanitarias.
- * Fitosanitarias.
- * Higiene y seguridad industrial.
- * Transporte.

2.8.3 Plaguicidas restringidos en México (Semarnap – Serie 4, 1996).

Los siguientes plaguicidas sólo pueden ser adquiridos en las comercializadoras mediante la presentación de una recomendación escrita de un técnico oficial o privado que haya sido autorizado por el Gobierno Federal.

- | | |
|-------------------------|---------------------------|
| * Alaclor | * Isotiocianato de metilo |
| * Aldicarb | * Lindano |
| * Bromuro de metilo | * Metamidofos |
| * Clordano | * Metam sodio |
| * Cloropicrina | * Metoxicloro |
| * Clorotalonil | * Mevinfos |
| * Dicofol | * Paraquat |
| * 1, 3 – Dicloropropeno | * Pentaclorofenol |
| * Forato | * Quintozeno |
| * Fosfuro de aluminio | |

Su manejo y aplicación se efectuarán bajo la responsabilidad y supervisión del técnico autorizado que los haya recomendado.

2.8.4 Plaguicidas prohibidos en México (Semarnap – Serie 4, 1996).

Conforme a la DOF del 3 de Enero de 1991, han sido prohibidos para todos los usos:

- | | |
|---------------------------------|-----------------------|
| * Acetato o propionato de fenil | * Formotión |
| * Ácido 2, 4, 5 - T | * Fumisel |
| * Aldrín | * HCH |
| * Cianofos | * Kepone / Clordecone |
| * Cloranil | * Mercurio |
| * DBCP | * Mirex |
| * Dialiafor | * Monurón |
| * Dieldrín | * Nitrofen |
| * Dinoseb | * Paratión etílico |
| * Endrín | * Scradan |
| * EPN | * Sulfato de talio |
| * Erbón | * Toxafeno |
| * Fluoracetato de sodio (1080) | * Triamifos |

2.9 Plaguicidas organoclorados.

Todos los plaguicidas de este grupo contienen cloro, carbono e hidrógeno y algunos contienen también oxígeno y azufre. La mayoría de los organoclorados son insecticidas. En general estos compuestos tienen una alta persistencia en el suelo y en los alimentos para consumo humano y animal, y tienden a acumularse en los tejidos grasos (Hammastrand K., 1981).

Entre los plaguicidas organoclorados se encuentran:

- * **Clordano**
- * Endosulfan
- * Clorobencilato
- * **DDT**
- * Dicofol
- * **Lindano**
- * **Metoxicloro**
- * Toxafeno
- * **Hexaclorobenceno**
- * **Heptacloro**
- * **Epóxido de Heptacloro**
- * Aldrín
- * Dieldrín

Los organoclorados son moléculas orgánicas cloradas con peso molecular de 291 a 545; su estructura cíclica y su gran peso molecular los hace muy parecidos químicamente a los hidrocarburos clorados utilizados como disolventes. Una de las diferencias de un plaguicida organoclorado con respecto a un hidrocarburo clorado es que los plaguicidas son estimulantes del sistema nervioso central y los hidrocarburos clorados son depresores del mismo. Los plaguicidas organoclorados, escasamente se degradan en el organismo y son lipófilos lo que favorece el depósito en tejido adiposo (Hammastrand K., 1981). Las características físicas, químicas, usos, medios de exposición, toxicidad humana, niveles máximos permisibles por agencias internacionales, toxicidad D_{L50} e IDA de los plaguicidas estudiados en el presente trabajo se muestran en el Anexo III.

2.9.1 Toxicología (Arias V.J.A, 1990).

Los organoclorados se absorben por la piel y los aparatos digestivo y respiratorio. La intoxicación aguda rara vez se presenta por exposición durante períodos cortos de tiempo, pero por su gran solubilidad en las grasas se acumula en los tejidos grasos constituyendo así un serio problema por acumulación. Por consiguiente, la toxicidad crónica originada por la dosis, duración y frecuencia de exposición es la más importante en el caso de los organoclorados. Sin embargo, una sola exposición a fuertes dosis actúa sobre el sistema nervioso central generando alteraciones nerviosas y convulsiones, aunque se desconoce el mecanismo exacto de esta acción.

Aunque muchos de los plaguicidas organoclorados o sus productos de degradación pueden almacenarse en la grasa corporal, aparentemente no producen efectos adversos mientras permanezcan en ella. Sin embargo, si se liberan como consecuencia de una pérdida de peso, constituyen una fuente de envenenamiento (Ellenhorn M.J., 1988).

Tras la absorción del tóxico, aparecen los síntomas en un intervalo comprendido entre minutos a horas, con una duración del cuadro de varias horas o días. El síntoma principal son las convulsiones.

Los síntomas que se presentan con una sola exposición a fuertes dosis, son similares a los inducidos por otros muchos venenos.

La intoxicación aguda por lo plaguicidas organoclorados se manifiesta por aprehensión, exaltabilidad, mareo, dolor de cabeza, desorientación, debilidad, parestesia, espasmos musculares, temblores y convulsiones.

Las convulsiones debidas a la intoxicación por estos plaguicidas y aquellas debidas a la epilepsia idiopática, se diferencian solamente midiendo los niveles de estos plaguicidas en la sangre.

En la intoxicación crónica se observa falta de apetito, pérdida de peso, debilidad general, palidez, temblor, polineuritis, síntomas psíquicos, alteraciones hepáticas y molestias anginosas. La intoxicación dérmica se manifiesta por exantemas y síntomas alérgicos, efecto que es exagerado por los disolventes con que generalmente se formulan (Ellenhorn M.J., 1988).

2.9.2 Límites permitidos en agua potable.

Plaguicida	Límite permitido por la EPA (ATSDR, 2003).	Límite permitido por NOM-127-SSA1-1994 (ppb)
Aldrín	0.001 ppm	0.03
Clordano	0.002 ppm	0.30
DDT	N.D	1.00
Dieldrín	0.002 ppm	0.03
Epóxido de heptacloro	2.78 ppt	0.03
Heptacloro	0.0004 ppm	0.03
Hexaclorobenceno	0.001 ppm	0.01
Lindano	0.0002 ppm	2.00
Metoxicloro	0.04 ppm	20
2, 4 - D	N.D	50

Tabla 8. Límites permisibles de plaguicidas en agua potable.

2.10 Preparación de muestra.

La preparación de muestra es conocida como la fuente principal del retraso en el proceso analítico. Más del 80% del tiempo y costo de operación de un laboratorio analítico, tiene que ver con uno de los siguientes cuatro pasos:

- * Recolección, transferencia y almacenaje de muestras.
- * Separación de los analitos de interés de componentes interferentes.
- * Transferencia de analitos a un solvente apropiado ó a la fase móvil.
- * Concentración de la solución o vapor de la muestra a un nivel apropiado para separación, detección y/o cuantificación.

2.11 Métodos de separación (Joseph P.N., 1976).

Los métodos de separación se basan en diferencias entre las propiedades físicas de los componentes de una mezcla, tales como: punto de ebullición, densidad, presión de vapor, punto de fusión, solubilidad, etc. Los métodos más conocidos son:

- * Filtración.
- * Decantación.
- * Evaporación.
- * Cristalización.
- * Sublimación.
- * Destilación.
- * Extracción.
- * Cromatografía.

2.12 Extracción (Marcilla G.A., 1999).

Es todo proceso en el que una sustancia pasa de una fase sólida a una fase líquida o de una fase líquida a otra líquida.

Los métodos de extracción se emplean para efectuar separaciones preliminares que posteriormente se complementan con el uso de algún otro método. Las aplicaciones de estos métodos son más frecuentes en química orgánica que en química inorgánica, debido fundamentalmente a que los compuestos orgánicos suelen ser solubles en un mayor número de disolventes.

La extracción de compuestos orgánicos de la matriz de una muestra generalmente consiste de:

- * Métodos de purga y captura o de espacio superior para concentrar sustancias volátiles.
- * Extracción de fase sólida.
- * Extracción con fluidos supercríticos para compuestos semivolátiles o no volátiles.
- * Extracción líquido-líquido.

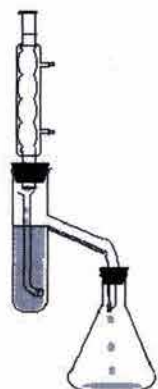
Debido a que en el presente trabajo se utiliza la extracción líquido-líquido a continuación se detalla este proceso de separación.

2.13 Líquido – líquido (Marcilla G.A., 1999).

A menudo llamada extracción con disolventes, consiste en la separación de los constituyentes de una mezcla líquida por contacto con otro líquido inmiscible (parcial o totalmente inmiscible), por lo tanto, no supone cambio de estado físico. Si los componentes de la mezcla original se distribuyen de forma diferenciada entre las dos fases líquidas, se produce un cierto grado de separación, que puede acentuarse por la combinación de etapas múltiples, tal como ocurre en operaciones como la destilación o la absorción.

Esta técnica de extracción es la más utilizada en los métodos EPA y Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Existe una gran variedad de material de vidrio diseñada para cumplir con los requisitos de estos métodos, tales como: extractores continuos líquido / líquido para disoluciones en los métodos EPA SW864; extractores Soxhlet, para disolución de analitos en sólidos; y concentradores Kuderna-Danish, para reducir disolventes en la concentración de analitos antes del análisis.

Los métodos EPA especifican procedimientos de extracción con disolvente para contaminantes semivolátiles, pesticidas, PCB's y dioxinas en agua y muestras de desechos peligrosos. A continuación se presenta un esquema típico de extracción líquido-líquido.



Extracción a Contra - Corriente ó Continua Líquido-Líquido.



Extracción Líquido-Sólido continua.



Rota-vapor



Concentrador Kuderna - Danish



Extractor Soxhlet



Embudo de separación

Figura 1. **Material de vidrio típico para extracción de fase líquida** (Marcilla G.A., 1999).

Este tipo de separación se basa en la Ley de distribución, también conocida como Ley del Equilibrio Heterogéneo y se describe de la siguiente manera:

La relación de las concentraciones de equilibrio de una sustancia que está distribuida entre dos disolventes inmiscibles que estén en contacto es constante a una temperatura determinada. Esta constante se denomina constante de distribución, coeficiente de distribución o coeficiente de partición, por lo que la expresión matemática de esta ley, está dada por la siguiente ecuación:

$$K = C_2 / C_1$$

En donde:

C_1 y C_2 = Concentraciones que en el equilibrio tiene el soluto considerado con los disolventes 1 y 2.

Esta ley asume que se tiene un comportamiento ideal, es decir, que hay ausencia de otros fenómenos como asociaciones intermoleculares del soluto consigo mismo o disociaciones del soluto, etc. Estas desviaciones de la idealidad se pueden tomar en cuenta en algunos casos, empleando coeficientes de actividad, en vez de concentraciones en la expresión matemática de la ley (Joseph P.N, 1976).

Cuando una cantidad determinada de un soluto originalmente disuelto en un disolvente se equilibra con un segundo disolvente que sea inmiscible con el primero, el soluto se distribuye en los dos disolventes, guardando como proporción la relación de sus solubilidades en cada uno de los disolventes. La cantidad total del soluto que se encuentre ahora en cada una de las fases depende por lo tanto de su solubilidad en cada uno de los disolventes y del volumen de cada fase.

A pesar de la gran variedad de matrices y compuestos de interés, las diferentes técnicas de extracción y concentración con solvente responden a los mismos principios básicos. La selección del material de vidrio depende de muchos factores: matriz de la muestra, analitos a determinar, economía, facilidad de montaje y limpieza, y compatibilidad con otra vidriería.

2.13.1 Campos de aplicación.

- * Como sustituto de la destilación o evaporación, cuando las sustancias a separar son químicamente diferentes.

Por ejemplo, el ácido acético puede separarse de disoluciones diluidas en agua a costos relativamente elevados por rectificación, sin embargo, se puede separar con relativa facilidad y a menor costo por extracción seguida de rectificación del extracto.

Cuanto más diluida sea la disolución de partida, tanto más económica resultará la separación por extracción (siempre que, como suele ocurrir, el calor latente de vaporización del disolvente sea menor que el del agua). También puede resultar necesario recurrir a esta operación, cuando la sustancia a separar pueda descomponerse térmicamente y por lo tanto deba realizarse la destilación a vacío. Por ejemplo, es el caso de ácidos grasos de larga cadena que pueden separarse de los aceites vegetales que los contienen por destilación a alto vacío, pero que pueden recuperarse ventajosamente por extracción con propano líquido (Marcilla G.A., 1999).

- * Para separaciones que no son fáciles o posibles por otras técnicas (Marcilla G.A., 1999).

Por ejemplo la separación de hidrocarburos aromáticos y parafínicos de pesos moleculares próximos (y, por tanto, parecidos puntos de ebullición) es muy sencilla por extracción con distintos disolventes, como el dióxido de azufre y dietilenglicol, pero es prácticamente imposible por destilación ya que las presiones de vapor son muy parecidas. Muchos productos farmacéuticos (como la penicilina) se obtienen de mezclas tan complejas, que su separación sólo es posible por extracción.

- * Muchas separaciones de metales, en particular aquéllas costosas y difíciles por medios químicos (como vanadio-uranio, hafnio-circonio) se pueden llevar a cabo económicamente por extracción. Incluso productos inorgánicos de bajo costo tales como el ácido fosfórico, bórico o hidróxido sódico se purifican por extracción con disolventes (Marcilla G.A., 1999).
- * Procesos de extracción supercrítica permiten la recuperación de distintas sustancias como la cafeína, etc. utilizando básicamente el dióxido de carbono supercrítico como disolvente.

2.14 Cromatografía.

Técnica de separación en la cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales constituye la fase estacionaria de gran área superficial y la otra es un fluido (fase móvil) que pasa a través o a lo largo de la fase estacionaria.

La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte, de gran área superficial. La fase móvil es un fluido (puede ser gas, líquido o fluido supercrítico) que se utiliza como portador de la mezclas (Skoog A. D., 2001).

2.14.1 Clasificación (Gutiérrez R., s.f.).

Basándose en la naturaleza de la fase móvil, la cromatografía se divide en Cromatografía de Gases y Cromatografía de Líquidos, las cuales a su vez se subdividen al tomar en cuenta la naturaleza de la fase estacionaria, tal como se muestra en la siguiente figura:

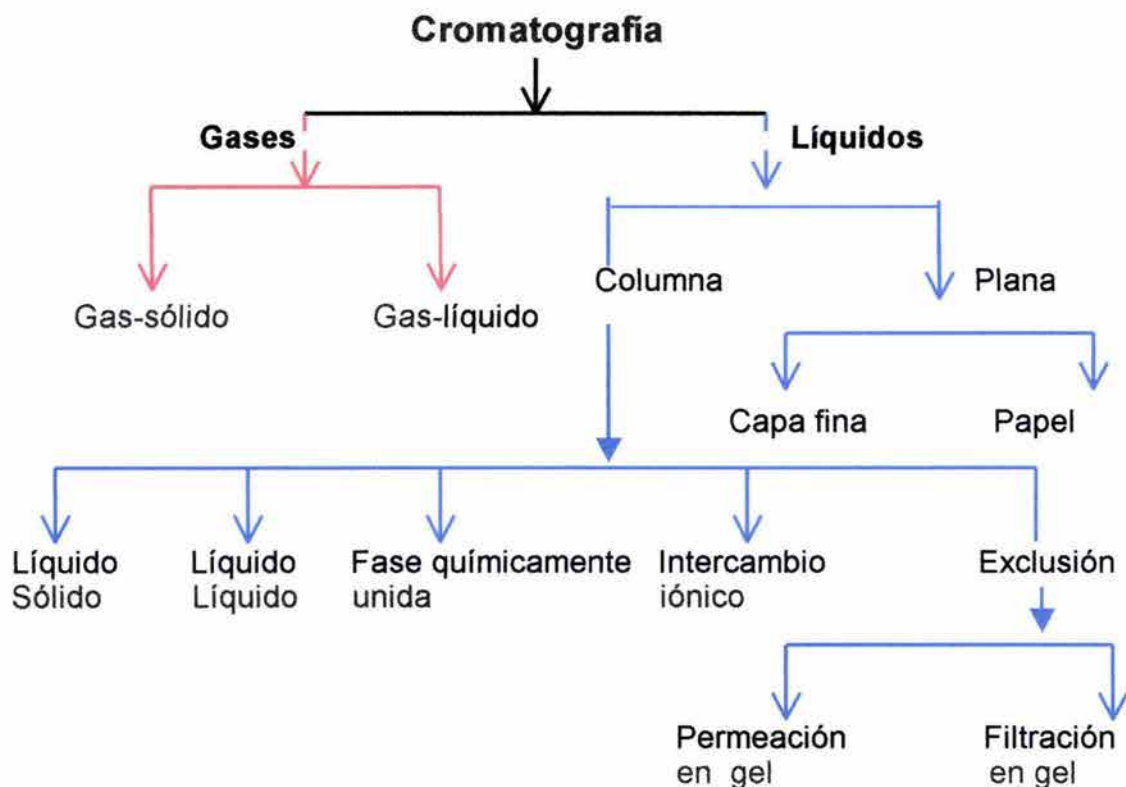


Figura 2. Clasificación de la cromatografía.

2.14.2 Principio (Gutiérrez R., s.f.).

En la cromatografía ocurren dos fenómenos muy importantes y que son prácticamente los rectores del proceso de separación: la adsorción y la absorción.

La **adsorción** es la retención de una especie química en los sitios activos de la superficie de un sólido, quedando delimitado el fenómeno a la superficie que separa las fases o superficie interfacial.

Esta retención superficial puede ser física o química. La adsorción depende de la naturaleza de la sustancia adsorbida, de la temperatura, de la naturaleza y estado de subdivisión del adsorbente y de la concentración.

La **absorción** es la retención de una especie química por parte de una masa y depende de la tendencia que tiene esta a formar una mezcla o reaccionar químicamente con la misma.

Los componentes de la muestra se distribuyen entre la fase móvil y la fase estacionaria. Algunos componentes interactúan más con la fase estacionaria causando en ellos una lenta movilidad a través de la columna.

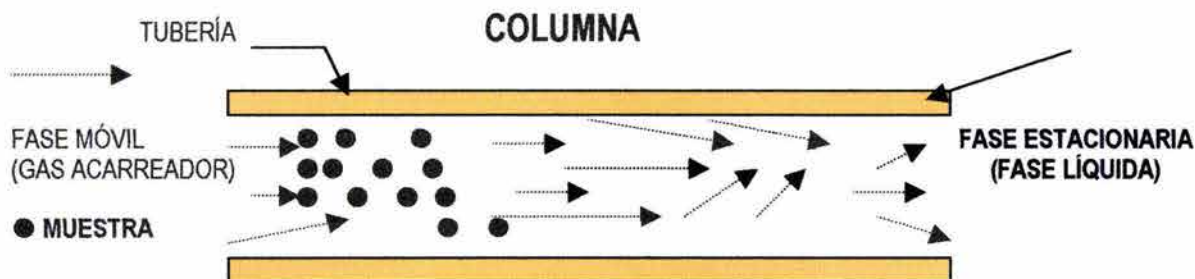


Figura 3. Distribución de los componentes (Gutiérrez R., s.f.).

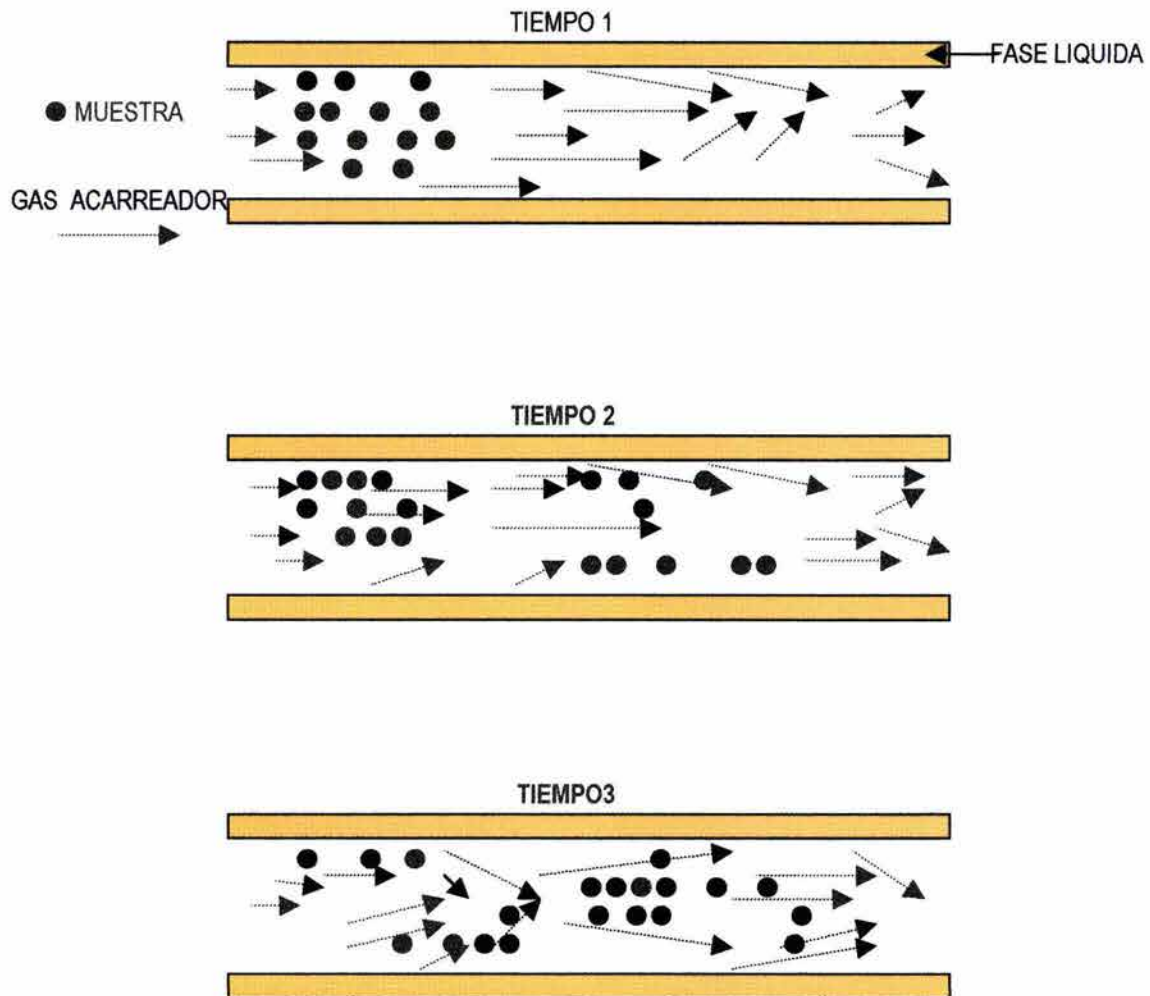
2.14.3 Proceso de separación (Gutiérrez R., s.f.).

Figura 4. Proceso de separación.

Los compuestos de la muestra pasan parte del tiempo en la fase estacionaria y el tiempo restante son arrastrados por el gas de arrastre a través de la columna.

2.14.4 Resultados cromatográficos.

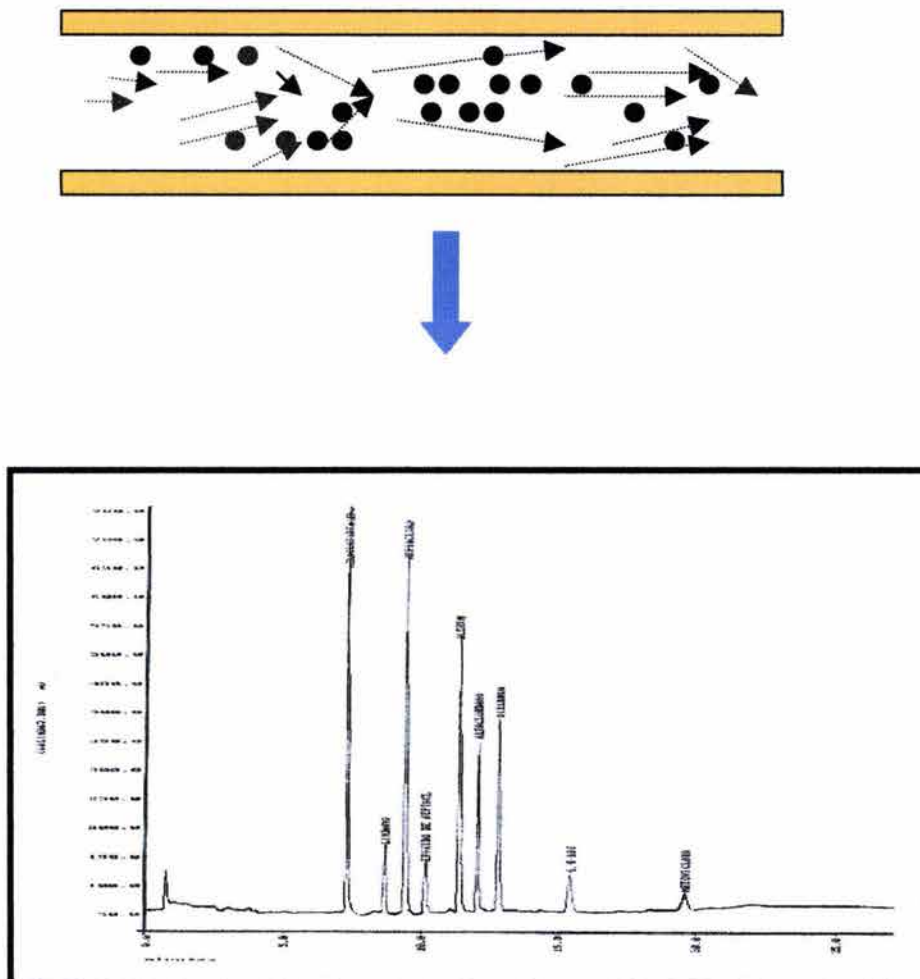


Figura 5. Distribución de los componentes.

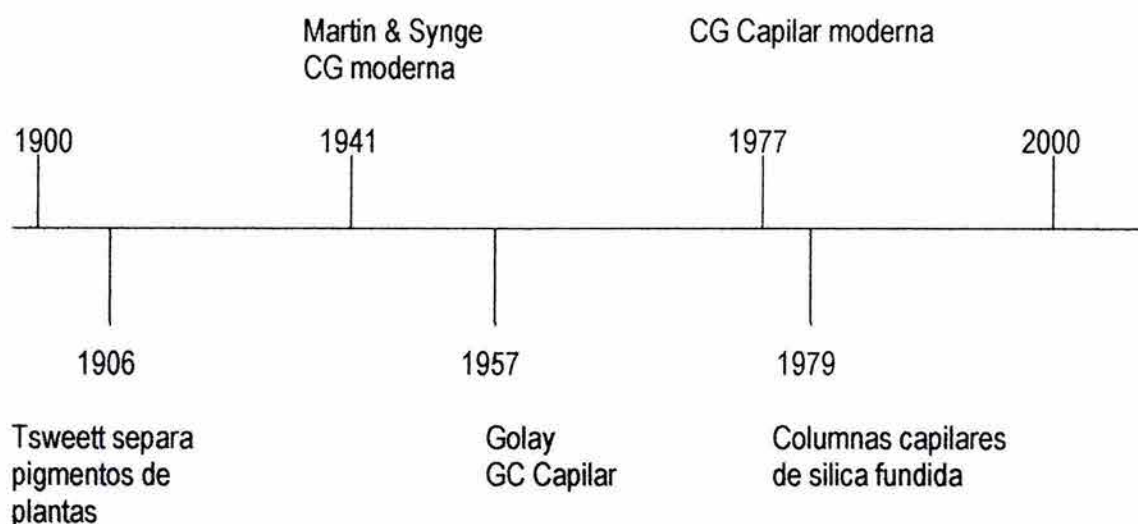
El tiempo de retención de los compuestos de la muestra son distintos, por lo cual emergen de la columna separados.

Para comprender mejor la Cromatografía es necesario entender las teorías del proceso cromatográfico, por lo cual estas se describen en el Anexo VI.

2.15 Cromatografía de Gases .

Es la técnica a elegir para la separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles. La cromatografía gas-líquido (GLC) lleva a cabo la separación por medio del reparto de los componentes de una mezcla química, entre una fase gaseosa que fluye (móvil) y una fase líquida estacionaria sujeta a un soporte sólido. La cromatografía gas-sólido (GSC) utiliza un absorbente sólido como fase estacionaria. La disponibilidad de detectores versátiles y específicos y la disponibilidad de acoplar el cromatógrafo de gases a un espectrofotómetro de masas o un espectrofotómetro de infrarrojo, amplían aún más la utilidad de la cromatografía de gases (Skoog A.D., 2001).

2.15.1 Evolución (Gutiérrez R., s.f).



- * Way y Thompson, reconocen el fenómeno de intercambio iónico en sólidos (1848).
- * Runge, Schoenbein y Goepelroeder estudian el análisis capilar en papel (1850 - 1900).
- * Lemberg, ilustra la reversibilidad y estaciometría del intercambio iónico en minerales de silicato de aluminio (1876).
- * Reed, registra la primera separación en columna: utiliza tubos de caolín para separar FeCl_3 de CuSO_4 (1892).
- * Ideada por Tsweett en 1903 - 1906. Inventa la cromatografía utilizando un solvente puro para desarrollar un cromatograma, idea la nomenclatura y utiliza absorbentes suaves para la separación de pigmentos (CL).
- * Karrer, Jun y Strain, utilizan lima activada, alumina y magnesio como absorbentes (1930 – 1932).
- * Holmes y Adams, sintetizan un compuesto orgánico utilizando resinas de intercambio iónico (1935).
- * Desarrollo de la cromatografía de gases (1941).
- * Teoría de cromatografía de gases (1957).
- * Detector de ionización de flama (1958).
- * Instrumentos de cromatografía de gases Capilar (1977).

- * Columnas capilares de silica fundida (1979).
- * Detector termoiónico (N y P).
- * Detector fotométrico de flama (S).
- * Detector de captura de electrones.
- * GC-IR.
- * GC-MS

2.15.2 Ventajas (Willard H., 1981).

- * Ofrece rapidez y alta resolución en la separación de un amplio rango de compuestos.
- * Análisis de compuestos suficientemente volátiles (presión de vapor alta o temperatura de ebullición baja).
- * Compuestos estables a la temperatura de análisis (compuestos no labiles).
- * La muestra debe estar en fase gaseosa durante todo el sistema.

2.15.3 Sistema Cromatográfico de Gases.

Componentes principales.

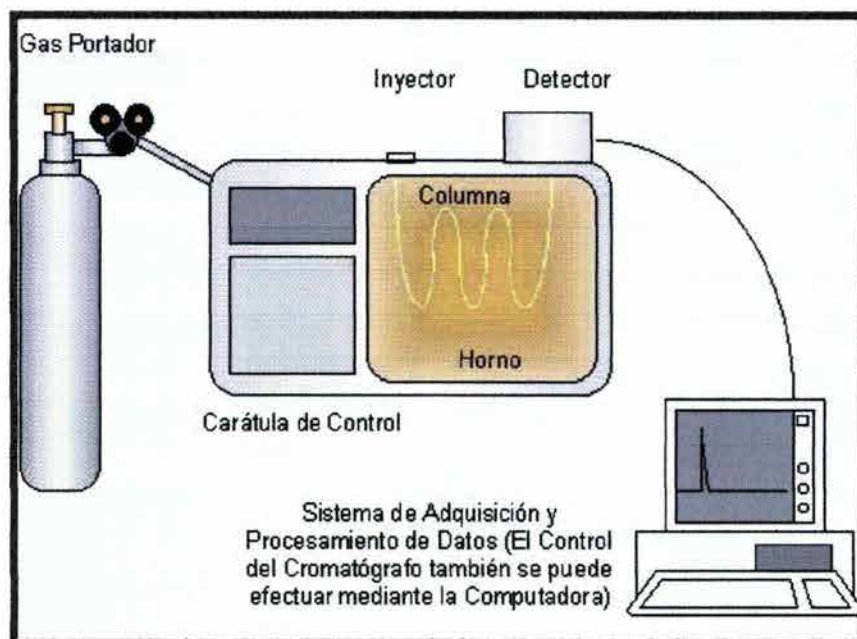


Figura 6. Sistema cromatográfico de gases (Ur, 2004).

Los componentes principales de un cromatógrafo de gases son:

- * Gas de arrastre.
- * Inyector
- * Columna
- * Detector.
- * Estación de datos (computadora con software)

2.15.4 Gas de arrastre (Blanco G., s.f).

Cumple básicamente dos propósitos:

- 1.- Transportar los componentes de la muestra
- 2.- Crear una matriz adecuada para el detector

2.15.4.1 Características (Blanco G., s.f).

- * Grado cromatográfico.
- * Libre de humedad e hidrocarburos.
- * Inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria).
- * Se selecciona de acuerdo al detector.
- * Económico y fácilmente disponible.
- * La presión del gas de arrastre debe estar regulada por una válvula de presión.
- * El flujo del gas de arrastre debe estar controlado para tener una relación de flujo constante.
- * El número de platos teóricos o la eficiencia de la columna depende de la velocidad del gas de arrastre.

Entre los tipos de gas de arrastre que existen están: He, Ar, N₂, H₂, Ar / CH₄.

2.15.4.2 Selección por tipo de detector (Greenfield Chrompage13a, 2004).

Detector	TCD	ECD	FID	TSD	FPD	ELCD	PID
Gas de arrastre	He	N ₂	He	He	H ₂	He	He
	N ₂	He	N ₂	N ₂	N ₂		N ₂
	H ₂		H ₂				
	Ar						
Gases de combustión			H ₂	H ₂	H ₂	H ₂	
			Aire	Aire	Aire	Aire	

Tabla 9. Selección de gas de acuerdo al detector utilizado.

En el Anexo VII A se presenta una Guía de referencia para varios detectores para Cromatografía de Gases y en el Anexo VII B se presentan las Mezclas de instrumentación existentes.

2.15.5 Inyector (Greenfield Chrompage12e, 2004).

El sistema de muestreo permite la introducción y la evaporación de la muestra ya sea sólida, líquida o gaseosa al sistema cromatográfico.

La muestra debe introducirse y evaporarse casi en forma instantánea, así mismo debe ser arrastrada, ya en forma de vapor, hasta la columna con un mínimo de ensanchamiento.

Para muestras líquidas el sistema de muestreo más empleado es la introducción de la muestra mediante una jeringa, perforando una septa.

Para muestras gaseosas se pueden emplear válvulas especiales de vidrio o acero que permiten introducir volúmenes conocidos de muestra al sistema cromatográfico. Es posible también introducir el gas por medio de jeringas especiales provistas de émbolos de teflón y que dan un cierre hermético.

Para muestras sólidas se recurre al empleo de solventes y subsiguiente inyección con jeringa o al empleo de jeringas especiales en forma de espátula que permiten introducir la muestra por la septa.

2.15.5.1 Tipos de inyectores (Greenfield Chrompage12e, 2004).

- * Inyector para columna empacada.
- * Inyector para columna capilar.
- * Inyector automático.

Debido a que en el presente trabajo se utiliza un inyector capilar, a continuación se detalla este.

2.15.5.2 Capilar (Greenfield Chrompage12e, 2004).

Este tipo de inyector se utiliza cuando se tiene una columna capilar.

Características.

- 1.- Capacidad pequeña de muestra
- 2.- Baja relación de flujo de gas de arrastre (se requiere un gas auxiliar "Make-up" para el detector.
- 3.- Utiliza un Hardware especial, el cual consta de septum de purga, hardware para splitter y regulación de presión / flujo
- 4.- Requiere diferentes técnicas de inyección, las cuales son inyección Split / Splitter e inyección On-column

En el Anexo VIII se describen los tipos de inyección cuando se utiliza un inyector capilar.

2.15.6 Columna (Willard H., 1981).

Es el lugar donde ocurre la separación. Se dice que es el corazón de un cromatógrafo.

2.15.6.1 Clasificación.

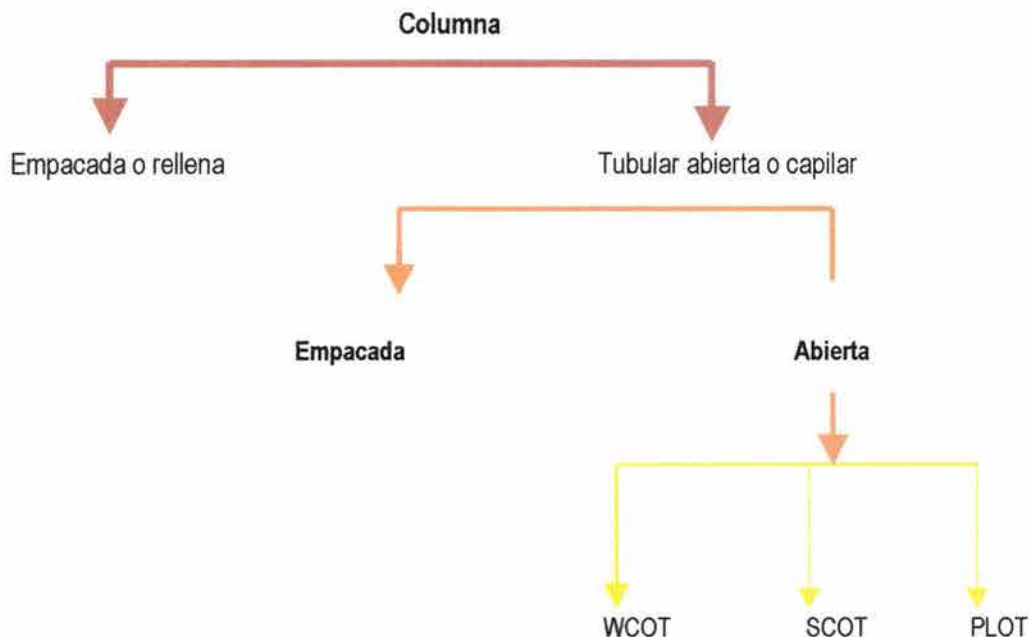


Figura 7. Clasificación de columnas.

✱ **Columna empacada o rellena**

Este tipo de columnas son tubos de vidrio o metal, las cuales están rellenas de un soporte granular cubierto por una película de fase estacionaria; su longitud es entre 1 y 10 m y con diámetro interno entre 2 y 4 mm. El flujo de gas de arrastre es de 30 a 100 mL/min y su capacidad de carga es grande, por lo cual el volumen de inyección de muestra va de los 2 a 5 μL (Willard H., 1981).

La gran desventaja de este tipo de columnas es la baja eficiencia.

✱ **Columna tubular o capilar**

Este tipo de columnas pueden ser de acero inoxidable, vidrio o silica fundida.

2.15.6.2 Características (Willard H., 1981).

- Tubo capilar de 0.1 a 0.53 mm de diámetro interno
- Longitud de 15 a 100 m.
- La fase estacionaria esta depositada en la pared del tubo.
- Flujo de 0.5 a 3.0 mL / min
- Capacidad de carga pequeña (según el espesor de la película).
- Volumen de inyección < 1 μL
- Todos los materiales deben ser inertes, libres de óxidos o sitios activos; mecánicamente resistentes, térmica y químicamente estables.
- Proporciona eficiencias altas.
- Se utiliza para muestras con separaciones críticas al final de la corrida.

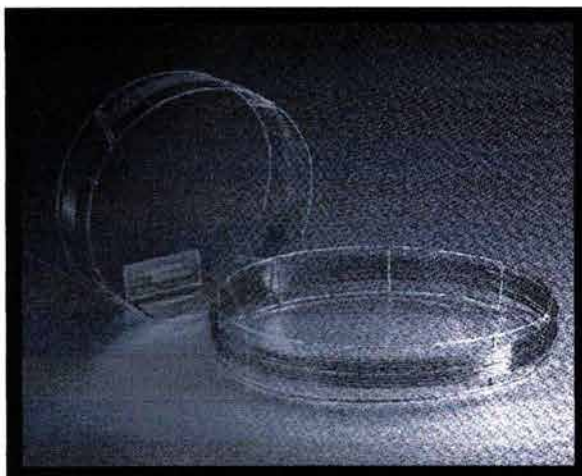


Figura 8. **Columna capilar** (Agilent Technologies, 2000).

-
- ♦ **Columna empacada** con partículas sólidas ocupando el total del diámetro de la columna (microempacadas)
 - ♦ **Columna tubular abierta** con una trayectoria para el flujo abierta y sin restricción por medio de la columna

WCOT (Wall - coated open tubular), columna con pared impregnada.

SCOT (Support – coated open tubular), columna con soporte impregnado

PLOT (Porous – layer open tubular), columna con capa porosa

2.15.6.3 Ventajas (Willard H., 1981).

1. Proporciona una separación mejor en un tiempo igual o más corto que una columna empacada.
2. Puede conseguirse la misma resolución que en una columna empacada en menor tiempo.
3. Análisis de trazas.
4. Tiempo de análisis corto.

2.15.6.4 Tipos de fases estacionarias (Varian, 2000).

En este tipo de columnas el soporte es siloxano y el sustituyente depende de la aplicación que se requiera, entre los cuales se encuentran:

1. Fases no polares.
Para la separación de sustancias poco polares o no polares; por ejemplo OV-101 (100% metil).
2. Fases ligeramente polares
Separación de sustancias polares y no polares; por ejemplo OV-17 (50% fenil-50% metil).
3. Fases de polaridad media o alta.
Ideales para hidrocarburos no aromáticos; por ejemplo Carbowax (polietilenglicol).

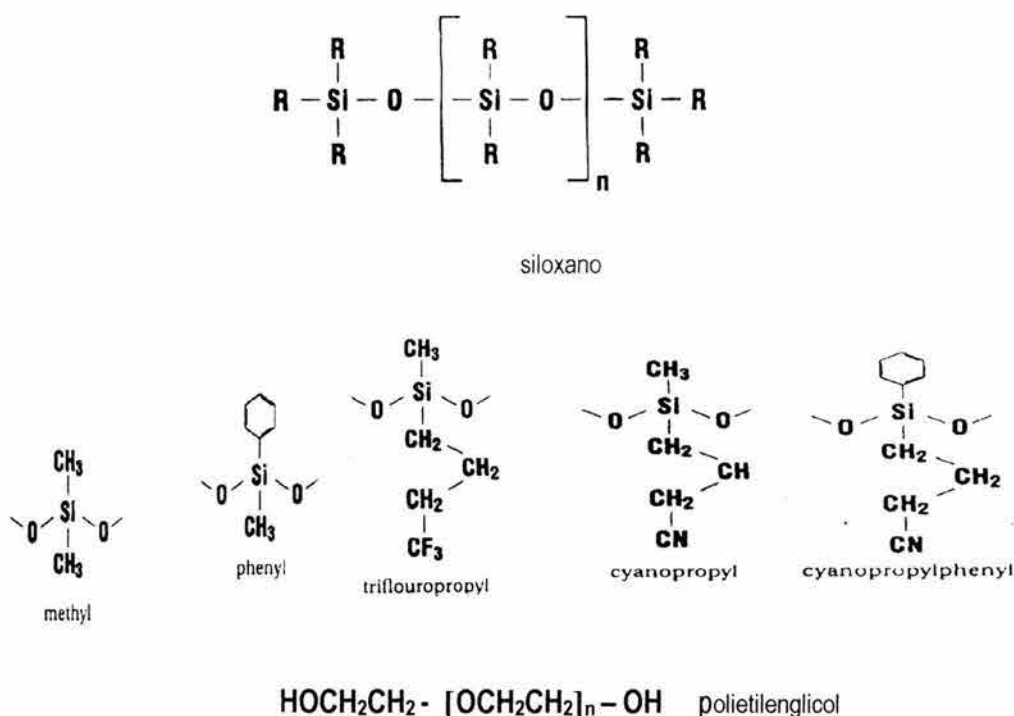


Figura 9. Fases estacionarias.

2.15.7 Detector.

Es un dispositivo que se utiliza para detectar la presencia de las sustancias eluidas a la salida de la columna cromatográfica.

En cromatografía, un detector compara una propiedad física entre el gas acarreador puro y el mismo gas acarreador con cada uno de los componentes que previamente se han separado en la columna, esta acción se traduce en una señal tipo eléctrica, que posteriormente se amplificará mediante un registrador gráfico o integrador permitiendo indicar el momento en que salen de la columna los componentes (Greenfield Chromapage13a, 2004).

2.15.7.1 Características (Varian, 2000).

1. Respuesta a los componentes.
2. Detección universal o selectiva.
3. Sensibilidad adecuada (medida de la efectividad de un detector para convertir la muestra en una señal eléctrica medible).
4. Bajo ruido (cuantificado por el promedio de la amplitud pico-pico de la señal. El significado de conocer el nivel de ruido de un detector es un factor importante en la determinación de la cantidad mínima detectable y el límite inferior del rango lineal. El nivel de ruido debe ser el más bajo posible).

-
5. Estable.
 6. Rango dinámico lineal (rango sobre el cual la sensibilidad del detector es constante).
 7. Lineal (rango de masa o concentración de muestra sobre el cual el detector mantiene una sensibilidad constante sin una desviación arbitraria. El significado práctico de linealidad del detector es el que le indica al analista la concentración para la cual el detector es confiable. Hay dos límites en la curva de linealidad: **Límite de concentración inferior**, que es dado por el límite de detección y el **Límite de concentración superior**, definido por un porcentaje de desviación arbitrario de la curva de linealidad, normalmente se toma un 5% de desviación).
 8. Reproducible.
 9. Límite de detección bajo (definido como la mínima cantidad de sustancia que puede producir una señal que sea el doble del nivel de ruido).
 10. Corriente de fondo estable y baja (señal constante de salida generada por el proceso en el que un detector está operando sin que alguna sustancia pasa a través de él. Esta señal es muy importante, ya que permite diagnosticar el buen o mal funcionamiento del detector)

2.15.7.2 Clasificación (Varian, 2000).

- ✱ Detectores según su grado de selectividad.
 - Detectores universales. Capaces de detectar cualquier sustancia.
 - Detectores específicos. La respuesta del detector es específica para cierto grupo funcional o compuesto.
 - ✱ Detectores destructivos y no destructivos.
 - Detectores destructivos. La sustancia queda alterada.
 - Detectores no destructivos. Detectan la sustancia sin modificarla químicamente.
 - ✱ Detectores según su modo de respuesta.
 - Dependientes del flujo másico. Producen una señal que es proporcional a la cantidad de soluto que pasa a través de él en la unidad de tiempo pero es independiente del volumen del gas acarreador para la elución.
 - Dependiente de la concentración. Dan una señal proporcional a la cantidad de soluto por unidad de volumen de gas acarreador que pasa a través de él.
 - ✱ Detectores de sensibilidad media.
 - TCD.
 - ✱ Detectores de elevada sensibilidad.
 - Detectores Ionización de flama, Captura de electrones, Fotoionización, Fotométrico de flama, Conductividad electrolítica, Nitrógeno-Fósforo.
-

Detectores existentes (Varian, 2000).

- * Conductividad Termica (TCD).
- * Ionización de Flama (FID).
- * Captura de Electrones (ECD)
- * Nitrógeno-Fosforo (NPD)
- * Conductividad Electrolítica (ELCD)
- * Fotoionización (PID)
- * Combinación ELCD/PID
- * Fotométrico de Flama
- * Espectrometría de Masas (MS)

Debido a que en el presente trabajo se utiliza el cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones (ECD), a continuación se detalla este detector.

2.15.7.3. Captura de Electrones (ECD).

Este fue diseñado por Lovelock a finales de los 1950's y a principios de los 1960's. El primer miembro de la familia fue el detector macroargón, el cual raramente se utiliza hoy en día, debido a que no presenta respuesta lineal.

El ECD emite radiación beta (electrones) para ionizar el gas acarreador y producir una corriente entre un par de electrodos. Cuando las moléculas orgánicas contienen grupos funcionales electronegativos, como halógenos, fósforo y grupos nitro pasan por el detector, estos capturan algunos electrones y reducen la corriente medida entre los electrodos. El ECD es tan sensible como el FID pero tiene un rango de análisis limitado, sin embargo para compuestos halogenados representa una excelente opción de análisis (Willard H., 1981).

Principio.

El eluyente de la columna pasa entre dos electrodos, uno de estos tiene en su superficie un radioisótopo (níquel 63) que emite electrones de alta energía (partículas beta) conforme decae. Estos electrones bombardean el gas de arrastre (nitrógeno o helio), lo que da como resultado la formación de un plasma de iones positivos, radicales y electrones térmicos por medio de una serie de colisiones elásticas e inelásticas. Este proceso es muy rápido ($< 0.1 \mu\text{s}$). Al aplicar una diferencia de potencial a la celda de captura de electrones se logra la recolección de los electrones térmicos que conforman la corriente permanente, o señal de la línea base, mientras pasa sólo el gas de arrastre. Los compuestos que absorben electrones en la corriente del gas de arrastre reaccionan con los electrones térmicos para producir iones negativos de mayor masa. La velocidad de recombinación entre iones negativos y positivos es muchas veces más rápida que entre los electrones térmicos y los iones positivos. La disminución en la corriente del detector, debida a la remoción de los electrones térmicos por la recombinación en presencia de compuestos captadores de electrones, constituye la base cuantitativa de la operación del detector.

Las fuentes radiactivas incluyen el tritio absorbido en titanio o en escandio y níquel 63 en lámina o como recubrimiento del interior de la cámara del cátodo. El níquel 63 es una fuente de mayor energía que el tritio, puede utilizarse hasta 400°C. Aún cuando la sensibilidad del detector de níquel es cinco veces menor que el de la unidad de tritio, la corriente permanente es constante y el detector es mucho menos susceptible a la contaminación (Willard H., 1981).

Características (Varian, 2000).

- * La respuesta es selectiva y altamente sensible a moléculas que contienen grupos funcionales electronegativos como halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro.
- * Es insensible a los alcoholes, aminas e hidrocarburos.
- * No altera significativamente a la muestra.
- * Se requiere make-up (gas auxiliar) para columnas capilares, con lo cual se recomienda una mezcla de Ar / CH₃ (95:5).
- * Fuente ⁶³Níquel
- * Sensibilidad: 0.1 – 10 pg (compuestos halogenados); 1 – 100 pg (nitratos); 0.1 – 1 ng (carbonilos)
- * Gas de arrastre: N₂ ó He
- * Gas auxiliar (make-up): Nitrógeno ó mezcla Ar / CH₃ (95:5)
- * Temperatura de operación: 100 a 450°C

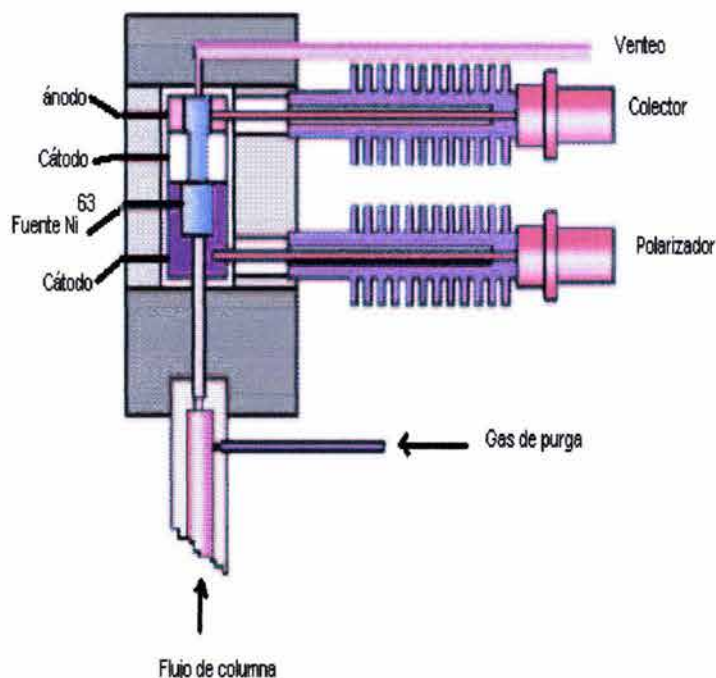


Figura 10. Diseño de un Detector ECD (CE instruments, 1997).

Aplicaciones (Varian, 2000).

Por ser muy útil en la detección y monitoreo de pesticidas, el detector de captura de electrones (ECD), es selectivo para compuestos polihalogenados, organometálicos, con grupos carbonilo conjugados, etc. Estas especies son capaces de capturar electrones de baja energía para formar iones cargados negativamente. Este fenómeno cambia la corriente interna dentro de la celda del detector, produciendo una respuesta.

Algunas de las aplicaciones del detector ECD son:

- Pesticidas clorinados, insecticidas, fungicidas y drogas.
- Determinación de PCB's y trihalometanos (THM's)
- Determinación de organometálicos.
- Análisis de compuestos orgánicos como ácidos, esteroides y aminas.
- Determinación de tricloroésteres de ácidos grasos
- Determinación de clorofluorocarbonos

2.15.8 Estación de datos (computadora con software).

Los sistemas de datos basados en computadoras en línea permiten una automatización completa.

Esto incluye la adquisición y reducción de datos en forma automática y la impresión de los resultados analíticos (Willard H., 1981).

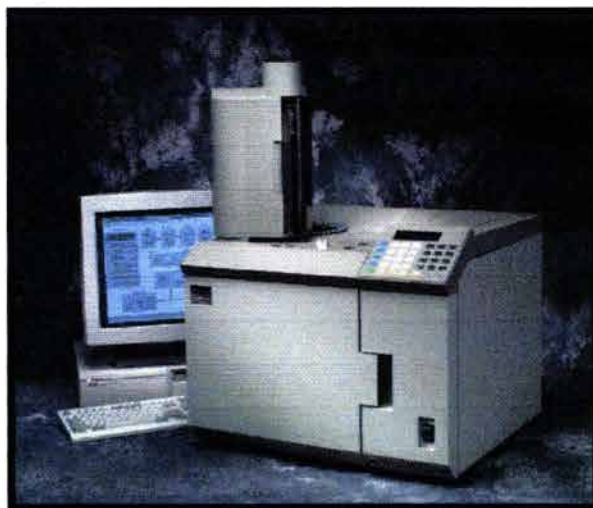


Figura 11. **Cromatógrafo de Gases con estación de datos.**
(Reproducido por cortesía de Perkin Elmer de México).

En los Anexos IX y X se describe el análisis cualitativo y la cuantificación por estándar externo, respectivamente; siendo este el método de cuantificación utilizado en el presente trabajo.

2.16 Validación de métodos analíticos (Johnson J., 1996).

La Food and Drug Administration (FDA) y la Environmental Protection Agency (EPA) utilizan el método analítico como un elemento fundamental en la regulación de productos. Las empresas reglamentadas utilizan los métodos analíticos para generar información que finalmente influye en la toma de decisiones durante el desarrollo y manufactura del producto, en el aspecto financiero y legal.

Desafortunadamente no existe una fuente única o una autoridad sobre la validación de métodos analíticos. Las validaciones comúnmente son por elección necesaria de pruebas y criterios de captación para un método dado.

Los criterios de aceptación sugeridos en la validación de métodos analíticos pueden modificarse dependiendo de la utilización del método, de la exactitud y de la sensibilidad requerida. Además algunas pruebas pueden ser omitidas y el número de réplicas puede reducirse o incrementarse bajo un juicio científicamente confiable.

La validación adecuada de un método analítico demuestra a un observador crítico que el método proporciona información (datos) de la sensibilidad especificada, exactitud y precisión. Un método analítico eficiente se basa en el mejor juicio científico del analista y, además, utiliza la instrumentación adecuada y las técnicas disponibles.

El equipo analítico común, refacciones y el procesamiento de datos deben ser suficientemente buenos, de otra manera pueden resultar métodos aparentemente aceptables.

Antes de que un método analítico sea sometido al proceso de validación, debe ser manejado con respecto a los procesos utilizados y a la experiencia del analista. En resumen un método analítico debe ser revisado por personal con experiencia en la técnica utilizada.

2.16.1 En Cromatografía de Gases (Jonson J., 1996).

La Cromatografía de Gases es la técnica cromatográfica más ampliamente utilizada debido a su alta eficiencia y reproducibilidad en columnas capilares de sílica fundida, por su amplia sensibilidad de sus detectores lineales y su compatibilidad con los espectrofotómetros (infrarrojo y masas). Esta técnica tiene aplicaciones en el área ambiental, química, petroquímica, alimenticia y farmacéutica.

Las partes individuales del cromatógrafo deben ser calibradas; entre estas partes se encuentran: el inyector, detector, controladores de flujo y el horno de la columna.

Los controladores de flujo o presión determinan la exactitud del gas acarreador, el cual influye en la reproducibilidad del tiempo de retención. El criterio más importante para el funcionamiento del inyector es la precisión del volumen de inyección.

La precisión de la temperatura de la columna en el horno en modo isotérmico y programación de temperatura es importante para estabilizar y reproducir la selectividad y los tiempos de retención.

El detector puede ser caracterizado por la respuesta de la prueba de un compuesto específico, además, por el ruido de la línea base.

Un sistema de validación usualmente incluye una precisión de la prueba de áreas de picos o alturas de picos y tiempos de retención.

2.16.2 Evaluación de un método analítico (Johnson J., 1996; Giral, 1991).

Para poder validar un método analítico se requiere realizar una evaluación de este, así como la realización de dos pasos principalmente, siendo estos:

1.- Determinar la clasificación del método. En Marzo de 1995, la (ICH) International Conference on Harmonization of Technical Requirements of Pharmaceuticals for Human Use, publicó una guía para la validación de procedimientos analíticos. Esta referencia documenta la clasificación de métodos analíticos en cuatro grupos:

- * Pruebas de identificación.
- * Medición cuantitativa para contenido de impurezas.
- * Pruebas límites para impurezas.
- * Pruebas cuantitativas para partes activas.

2.- Considerar las características del método analítico. Los parámetros que se evalúan durante la validación son:

- * Linearidad.
- * Precisión para el método.
- * Precisión para el sistema.
- * Repetibilidad y Reproducibilidad del sistema (R & R).
- * Exactitud.
- * Especificidad.
- * Límite de detección.
- * Límite de cuantificación.
- * Rango.

Lo extenso de la validación depende de la clasificación y características del método analítico en cuestión. La ICH desarrolló una matriz utilizando su clasificación y sus características del método para hacer esta determinación. Esta matriz es similar a las matrices originadas en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y el Canadian Health Protection Branch (CHPB). En la Tabla 10 se muestra un ejemplo de la matriz utilizada por la ICH.

Prueba característica del método	Prueba de identificación	Prueba cuantificación de impurezas	Prueba límite de impurezas	Prueba cuantitativa
Linealidad.	No	Si	No	Si
Precisión del sistema.	No	Si	No	Si
Precisión del método.	No	Si	No	Si
Precisión, Repetibilidad Reproducibilidad	No	Si	No	Si
Exactitud	No	Si	No	Si
Especificidad	Si	Si	Si	Si
Límite de detección	No	No	Si	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	No
Rango	No	Si	No	Si

Tabla 10. **Matriz utilizada por la ICH** (Johnson J., 1996; Giral, 1991).

La revalidación de un método analítico se realiza cuando se han hecho cambios significativos en el equipo, en el suministro crítico, en la síntesis de un producto o en el mismo método. Lo extenso de la revalidación depende principalmente de la naturaleza de los cambios. La revalidación debe documentarse en el protocolo de validación. La CHPB desarrolló matrices en sus guías de aceptación analítica que describen cuando se requiere la revalidación y los tipos de pruebas que deben efectuarse.

2.16.3 Parámetros (Johnson J., 1996).

✱ **Linealidad.**

Es la capacidad de un método de prueba para obtener resultados de prueba directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra.

✱ **Precisión para el método y sistema.**

Conformidad de dos o más mediciones que se obtuvieron bajo las mismas condiciones utilizando el mismo método de prueba.

✱ **Repetibilidad y Reproducibilidad del sistema (R & R) (CENAM, 1999).**

Un estudio R y R permite evaluar la variación mínima intrínseca del equipo de medición y el incremento de variación que se obtendrá en las mediciones (si alguno de los elementos participantes en el proceso de medición cambia). Generalmente en los estudios R y R, el elemento que cambia es el operario.

Los estudios R y R permiten evaluar el incremento en variabilidad debida al uso de diferentes equipos de medición, diferentes instalaciones, diferentes condiciones ambientales, etc.

Los estudios R y R se diseñan para diferentes fines, por ejemplo para evaluar la magnitud de diferentes elementos de variación y emplearla en el cálculo de incertidumbres, para controlar el comportamiento de equipos de medición o para controlar el comportamiento de procesos de producción. Para cada fin, se diseña y se realiza en forma distinta el estudio R y R.

Para vigilar que la única variable que cambió durante la prueba R y R, fue la que nosotros seleccionamos, es importante tener controladas todas las variables que intervienen en el mismo proceso.

Existen dos tipos de estudios R y R, los cuales son:

- Estudios R y R tipo I.

En este estudio se utiliza una sola pieza o espécimen aun cuando el número de operadores, pruebas y lecturas pueden variar.

- Estudios R y R tipo II.

En este estudio se utilizan hasta 10 piezas diferentes o especímenes aún cuando el número de operadores, pruebas y lecturas pueden variar.

- * Exactitud (Johnson J., 1996).

Conformidad entre un valor de medición y un valor aceptable. El valor aceptado puede obtenerse de una muestra preparada especialmente en donde los resultados del método de prueba en cuanto a exactitud y precisión conocida, son aceptables.

- * Especificidad (Johnson J., 1996).

Capacidad de un método de prueba para distinguir un analito de impurezas conocidas como: precursores sintéticos, metabolitos o productos de degradación, lo cual se muestra mediante la resolución con estos compuestos.

- * Límite de detección (LOD) (Johnson J., 1996).

Concentración más baja del analito en una matriz de muestra que es detectada, aunque no necesariamente cuantificable bajo condiciones analíticas específicas. El LOD es un tipo de sensibilidad.

-
- * Limite de cuantificación (LOQ) (Johnson J., 1996).

Cantidad más pequeña del analito en una matriz de muestra que puede ser cuantificada con una exactitud y precisión aceptable. El LOQ es un tipo de sensibilidad.

- * Rango.

El rango de un método analítico es el intervalo entre el nivel superior y el nivel inferior que ha sido determinado con precisión, exactitud y linealidad al utilizar un método.

2.16.4 Características del método (Johnson J., 1996; Giral, 1991).

Para la validación de un método analítico cada parámetro a evaluar debe contar con:

- * Procedimiento.
- * Documentación.
- * Criterios de aceptación.

2.16.4.1 Linealidad (Johnson J., 1996).

- * Procedimiento.

Preparar por lo menos cinco estándares que tengan diferente concentración del analito de interés, el rango de concentración debe estar entre el 50 % (concentración más baja) y el 150 % (concentración más alta) del rango de trabajo establecido. Los rangos del 75 % al 125% no son adecuados para la industria farmacéutica. Utilizar al menos seis réplicas por cada concentración, los estándares deben prepararse con la misma matriz de la muestra.

- * Documentación.

1. Registrar los resultados en el formato indicado, así como calcular la pendiente, desviación estándar y desviación estándar relativa para cada concentración.
2. Graficar la concentración (eje X) contra la respuesta para cada concentración (eje Y); además, se debe calcular la ecuación de regresión y el coeficiente de determinación (r^2) para la gráfica 1.
3. Registrar los cálculos, si una respuesta no es lineal, determinar la relación que existe en esta curva.
4. Graficar la concentración (eje X) contra la respuesta de cada réplica dividida por su concentración (gráfica 2).
5. La respuesta dividida por la concentración también se conoce como la razón de respuesta.

✱ Criterios de aceptación.

1. La curva en la grafica 1 debe ser lineal con una r^2 de al menos 0.98 (un valor de 0.99 es más deseable). El coeficiente de determinación puede ser menor que 0.99 basado en las necesidades del método.
2. Cuando se realiza un ajuste por mínimos cuadrados (lineal), las desviaciones en los puntos más lejanos del cero influyen en la pendiente de la línea, más que las desviaciones de los puntos cercanos al cero. Cuando se inicia un método para demostrar una escasa diferencia entre la respuesta actual y la respuesta extrapolada (de los puntos más bajos hacia la izquierda) la r^2 puede ser menor de 0.99.
3. Si la curva es curvilínea, se debe justificar en la hoja de datos. La curva debe ser lineal en todo el rango, si la curva no es lineal, se debe reducir el rango hasta que la respuesta sea lineal. Para realizar la curva estándar utilizar por lo menos cuatro concentraciones diferentes para el estándar.
4. Todos los valores para la curva de relación de respuesta deben disminuir dentro de la zona horizontal angosta. Los valores de concentración que están fuera de la zona horizontal no deben considerarse como aceptables para un rango normal de trabajo.
5. La curva de relación de respuesta se realiza para checar la linealidad. El detector debe ser estable, debe dar relaciones que varíen por lo menos 1 %.
6. Para una técnica muy ruidosa (las variables como el flujo, temperatura, vacío y presión afectan la respuesta) puede esperarse que tenga una relación grande (1 % al 5 %).

Debido a esto un método puede requerir de más inyecciones por muestra y estándar. Una secuencia de inyección puede ser: una serie de estándares, una serie de muestra, una segunda serie de muestras y una segunda serie de estándares. Todos los estándares y muestras deben inyectarse en el mismo orden.

2.16.4.2 Precisión para el método (Johnson J., 1996).

✱ Procedimiento.

Preparar una muestra representativa del analito utilizando la matriz para el método. La concentración del analito en la muestra debe ser veinte veces la cantidad del analito necesario para el ensayo. Utilizar un punto medio de la concentración esperada para el rango de trabajo para el analito. Preparar siete réplicas (de acuerdo a la EPA) o seis replicas (según la FDA) de la muestra y analizar de acuerdo al método.

✱ Documentación.

Registrar los resultados en la hoja de datos, como son los cálculos para la media, desviación estándar y desviación estándar relativa.

✱ Criterios de aceptación.

1. La desviación estándar debe ser menor del 2 %.
 2. La desviación estándar relativa real debe basarse en las necesidades del método y/o regulaciones.
-

2.16.4.3 Precisión para el sistema (Johnson J., 1996).

✱ Procedimiento.

1. Analizar seis réplicas de una solución estándar que se encuentre a la mitad del rango de operación esperado. Se puede utilizar la media del estándar derivado durante la precisión del método para estos datos.
2. Alternativamente si la solución estándar no se ha preparado con la matriz de prueba, entonces se debe inyectar seis o siete veces una muestra de concentración apropiada (que no se encuentre en los extremos del rango).
3. Determinar la altura, área de pico o relación de respuesta.

✱ Documentación.

Registrar la altura, área de pico o relación de respuesta en la hoja de datos; además, calcular la media, desviación estándar y desviación estándar relativa.

✱ Criterios de aceptación.

1. La desviación estándar debe ser menor del 2 %.
2. La desviación estándar relativa real debe basarse en las necesidades del método y/o regulaciones.

2.16.4.4 Repetibilidad y Reproducibilidad del sistema (R & R) Tipo II (CENAM, 1999).

✱ Procedimiento.

Preparar una serie de nueve muestras de diferentes concentraciones que estén espaciadas y cercanas al rango esperado para el método. Identificar las muestras del 1 al 9. Cada concentración debe ser aproximadamente diez veces la cantidad del analito necesario para el ensayo. Cada operador debe analizar todas las muestras dos veces en cualquier orden, utilizando el mismo equipo; se deben analizar las muestras en diferentes días, si las muestras son estables.

✱ Documentación.

Registrar los resultados y los cálculos en la hoja de datos. Determinar la repetibilidad y la reproducibilidad (ver Tabla 11).

✱ Criterios de aceptación.

1. Valores menores al 15% son aceptables.
 2. Valores entre 15% y 25% implican el uso del instrumento de medición, con reserva dado que no funciona bien el sistema instrumento - operario.
 3. Valores mayores al 25% son inaceptables, no puede utilizarse el sistema instrumento - operario.
-

Checar los datos para una buena discriminación de las mediciones, lo cual es la capacidad de un método para medir confiablemente pequeñas diferencias. Si existen tres o menos valores de rango o si más del 25 % de los valores del rango son cero, no deben discriminarse las mediciones, y los valores de repetibilidad probablemente están subestimados.

2.16.4.5 Exactitud (Johnson J., 1996).

✱ Procedimiento.

1. Preparar un rango de muestras que contengan un mínimo de cinco concentraciones diferentes del analito, las cuales deben estar en los rangos del 50 % (concentración más baja) a 150 % (concentración más alta) del rango de trabajo esperado. Utilizar mínimo seis réplicas por concentración.
2. Analizar las muestras de acuerdo al método en cuestión, utilizando la matriz del producto.

✱ Documentación.

1. Para cada muestra, reportar el valor teórico, valor experimental y el porcentaje de recuperación.
2. Calcular la media, desviación estándar, desviación estándar relativa y porcentaje de recuperación para todas las muestras.
3. Registrar los resultados en la hoja de datos. Cuando se quiera preparar placebos conocidos, utilizar una concentración baja del estándar conocido.

✱ Criterios de aceptación.

El porcentaje de recuperación debe estar entre el 90 % y 110 % del valor teórico, para productos no regulados. Para la industria farmacéutica de los Estados Unidos es deseable un porcentaje de recuperación del 90 % al 102 % para un ensayo del activo de un producto (fármaco). La EPA recomienda que el porcentaje de recuperación se encuentre dentro del 50 % al 150 % del valor teórico.

2.16.4.6 Especificidad (Johnson J., 1996).

✱ Procedimiento.

Es la capacidad que tiene el método para distinguir en un analito impurezas conocidas, precursores sintéticos, metabolitos o productos de degradación, lo cual se manifiesta en la resolución de los compuestos.

✱ Documentación.

Imprimir los cromatogramas o los datos para mostrar la resolución del método.

-
- * Criterios de aceptación.

Los compuestos contaminantes no deben interferir en el análisis del analito de interés.

2.16.4.7 Límite de detección (Johnson J., 1996).

- * Procedimiento.

Determinar la concentración más baja a la cual el analito en la matriz de la muestra se detecta.

- * Documentación.

Imprimir los cromatogramas o registrar la concentración mínima detectable en la hoja de datos.

- * Criterios de aceptación.
 1. No existe un límite mínimo detectable. Para los métodos cromatográficos, el límite superior debe ser por lo menos tres veces el nivel del ruido de la línea base.
 2. Algunos analistas calculan la desviación estándar de la señal (respuesta) de un número de blancos y se multiplica por dos para estimar la señal en el límite de detección. Los resultados se verifican analizando por lo menos seis muestras en el límite aproximado.

2.16.4.8 Límite de cuantificación (Johnson J., 1996).

- * Procedimiento.

Determinar la concentración más baja a la cual un analito que se encuentra en la matriz de una muestra puede ser determinado con exactitud y precisión requerida para el método en cuestión. Este valor puede ser la concentración más baja en la curva estándar.

- * Documentación.

Imprimir los cromatogramas o registrar la concentración más baja cuantificable en la hoja de datos para demostrar la exactitud y precisión requerida en los criterios de aceptación.

- * Criterios de aceptación.

El límite de cuantificación para los métodos cromatográficos se define como la concentración que proporciona una señal-ruido de 10:1 y es menor o igual al 10 % a la precisión o que da una relación de 20:1 y es menor o igual a 5 % de la precisión.

2.16.4.9 Rango (Johnson J., 1996).

- * Procedimiento.

Revisar los resultados de la prueba para todos los componentes de un método específico.

- * Documentación.

Registrar el rango en una tabla.

- * Criterios de aceptación.

Determinar el rango de las concentraciones del analito con la precisión, exactitud y linealidad con sus respectivos criterios de aceptación.

2.16.5 Documentación (Johnson J., 1996).

La documentación en validación consiste de un protocolo, resultados de la prueba y finalmente de un reporte. Lo anterior es indispensable para establecer un sistema numérico para protocolos y reportes. Por ejemplo, un método simple para la documentación de resultados de prueba y evaluaciones en una forma de reporte de validación se presenta en la Tabla 11. Esta forma debe incluir como soporte: cromatogramas, gráficas u otra información pertinente, la cual debe ser revisada y aprobada. Un método se considera validado cuando entra en los criterios de aceptación de un protocolo de validación aún cuando existe una adecuada justificación para él.

Algunas agencias de regulación como la EPA tienen requerimientos estrictos para la demostración de la integridad de los resultados, logaritmos de muestra, secuencia en la adquisición de resultados, sellos de fecha / hora, los cuales pueden ser necesarios para la sustentación consistente y consecutiva en la colección de datos. Se sugiere conservar los datos electrónicos desde el principio en una carpeta de validación.

Tabla 11. Documentación de resultados de prueba y reporte final (Johnson J., 1996).

Nombre del método:
 Número de validación:
 Equipo:
 Analistas:

Número de método:
 Revisión del método: Día:
 Localización de datos:

1. Linealidad

Nombre del archivo:

Estándar Concentración:					
Réplica 1					
Réplica 2					
Réplica 3					
Réplica 4					
Réplica 5					
Réplica 6					
Media					
Desviación estándar					
Desviación estándar relativa					

Ecuación de regresión =

Coeficiente de determinación =

2. Precisión del método

Nombre del archivo:

Concentración de muestra compuesta =

Réplica	Valor
Réplica 1	
Réplica 2	
Réplica 3	
Réplica 4	
Réplica 5	
Réplica 6	
Réplica 7	
Media	
Desviación estándar	
Desviación estándar relativa	

Tabla 11. (continuación) **Documentación de resultados de prueba y reporte final** (Johnson J., 1996).

3. Precisión del sistema

Nombre del archivo:

Concentración de solución estándar =

Réplica	Valor
Réplica 1	
Réplica 2	
Réplica 3	
Réplica 4	
Réplica 5	
Réplica 6	
Réplica 7	
Media	
Desviación estándar	
Desviación estándar relativa	

4. Repetibilidad y Reproducibilidad R & R (CENAM, 1999).

Nombre del método:

Día:

Equipo:

Número de validación:

Operador: A

	Prubs	Concentración Analito								Promedio
1	Prueba 1									
2	Prueba 2									
4	Rangos									RA=
5	Promedios									XA=

Rango = (Prueba 1 – Prueba 2) para cada concentración

Promedio = (Prueba 1 + Prueba 2) / 2

$$RA = \frac{\sum_{i=1}^n \text{Rangos}}{\# \text{ Muestras}}$$

$$XA = \frac{\sum_{i=1}^n \text{Promedios}}{\# \text{ Muestras}}$$

Tabla 11. (continuación) **Documentación de resultados de prueba y reporte final** (Johnson J., 1996).

Operador: B

	Prueba	Concentración Analito								Promedio
1	Prueba 1									
2	Prueba 2									
4	Rangos									RA=
5	Promedios									XA=

Rango = (Prueba 1 – Prueba 2) para cada concentración

Promedio = (Prueba 1 + Prueba 2) / 2

$$RB = \frac{\sum_{i=1}^n \text{Rangos}}{\# \text{ Muestras}}$$

$$XB = \frac{\sum_{i=1}^n \text{Promedios}}{\# \text{ Muestras}}$$

		Concentración Analito								
5	X_i									X=
6										Rp=

 X_i = (Promedio Operador A + Promedio Operador B) para una misma concentración

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{\# \text{ Muestras}}$$

Rp = Límite superior de X_i – Límite inferior X_i

R = (RA + RB) / # Operadores Donde # Operadores

Xdif = (Max – Min)

LSCR = R X D4 Donde D4 = 3.27 para 2 pruebas y 2.58 para 3 pruebas

Tabla 11. (continuación) **Documentación de resultados de prueba y reporte final** (Johnson J., 1996).

$$\text{LICR} = (R \times D3)$$

Donde D3 = 0 hasta 7 pruebas

Análisis de la unidad de medición:

Repetibilidad – Variación del equipo (V.E)

$$\text{V.E} = R \times K1$$

Donde K1 = 4.56 para 2 pruebas y 3.05 para tres pruebas

$$\% \text{V.E} = 100 (\text{V.E} / \text{T.V})$$

Donde:

$$\text{T.V} = \sqrt{(\text{V.E})^2 + (\text{P.V})^2}$$

Donde:

$$\text{P.V} = R_p \times K3$$

K3 = 1.67 para 9 muestras

Reproducibilidad – Variación del operador (V.O)

$$\text{V.O} = \sqrt{(\text{Xdif} \times K2)^2 - ((\text{V.E})^2 / \text{NI})}$$

Donde:

N= Número de lecturas (9 lecturas)

I = Número de pruebas (2)

$$\% \text{V.O} = 100 (\text{V.O} / \text{T.V})$$

Repetibilidad y Reproducibilidad (R & R)

$$\text{R \& R} = \sqrt{(\text{V.E})^2 + (\text{V.O})^2}$$

Tabla 11. (continuación) **Documentación de resultados de prueba y reporte final** (Johnson J., 1996).

% R & R = 100 (R & R / T.V)

5. Exactitud

Nombre del archivo:

Muestra					
Concentración:					
Réplica 1					
Réplica 2					
Réplica 3					
Réplica 4					
Réplica 5					
Réplica 6					
Media					
Desviación estándar					
Desviación estándar relativa					
% de recuperación					

6. Especificidad
Definir:

Nombre del archivo:

7. Límite de detección
Definir:

Nombre del archivo:

8. Límite de cuantificación
Definir:

Nombre del archivo:

9. Rango
Definir:

Nombre del archivo:

Evaluación:

Conclusión:

Completado por: _____

Día: _____

Revisado por: _____

Día: _____

Aprobado por: _____

Día: _____

3. OBJETIVOS.

3.1 Objetivo general.

Desarrollar un método analítico para la determinación de plaguicidas organoclorados en base a la NOM – AA – 71 - 1981, utilizando los recursos existentes en el Laboratorio del Agua de la Comisión del Agua del Estado de México; así como la validación para lindano en agua potable por cromatografía de gases de alta resolución.

3.2 Objetivos específicos.

3.2.1 Establecer las condiciones cromatográficas óptimas de operación del instrumento.

- * Flujo de gas de arrastre.
- * Flujo de Make Up.
- * Temperatura del inyector.
- * Temperatura del horno (columna).
- * Temperatura del detector.

3.2.2 Desarrollar un método analítico adecuado para la determinación de plaguicidas organoclorados en agua potable.

Este debe incluir los siguientes puntos:

- * Extracción líquido - líquido para plaguicidas organoclorados.
- * Eliminación de interferencias.
- * Concentración de la muestra.
- * Eliminación de impurezas.
- * Análisis cromatográfico.

3.2.3 Efectuar la validación del método analítico para la determinación de lindano en agua potable.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL.

4.1 Bases de la experimentación.

Debido a la creciente importancia que tienen los plaguicidas organoclorados en el medio ambiente y por lo tanto en el ámbito del análisis ambiental, siempre se ha buscado, no sólo la innovación en la tecnología instrumental, sino también el encontrar métodos analíticos alternativos para la determinación de dichos compuestos.

Por lo anterior se propone un método analítico cuantitativo para la determinación de plaguicidas organoclorados (Clordano, DDT, Lindano, Metoxicloro, Hexaclorobenceno, Heptacloro, Epóxido de Heptacloro, Aldrin y Dieldrin) por la técnica de separación de Cromatografía de Gases, utilizando el detector de Captura de Electrones (ECD).

Por medio de la técnica de Cromatografía de Gases de alta resolución y utilizando el Detector de Captura de Electrones (ECD) es posible desarrollar y validar un método analítico cuantitativo que permita realizar la verificación de la eficiencia de este detector en la determinación de plaguicidas organoclorados en agua potable. Esto debido a que el detector es sensible a los grupos funcionales halogenados (cloruro) que contienen los compuestos en cuestión.

4.2 Material, reactivos y equipo.

Material:

- * Matraces volumétricos de 100, 50 y 10 mL, Pyrex.
- * Pipetas volumétricas de 1 mL, Pyrex.
- * Embudos de separación de 2000 mL, Kimax.
- * Probetas graduadas de 100 y 1000 mL, Kimax.
- * Vasos de precipitados de 250 mL, Kimax.
- * Pipetas Pasteur.
- * Tubo de vidrio de 0.5 y 1.0 cm de diámetro interno.

Reactivos:

- * Estándares de plaguicidas clorados, Analytical Standards kit No. SIC / SICX, Polyscience Corporation 6366 Gross Point Road, Niles Il. 606048
- * n- hexano, grado cromatográfico, J.T. Baker.
- * Éter etílico, grado cromatográfico, J.T. Baker.
- * Iso-octano, grado cromatográfico, J.T. Baker.
- * Sulfato de sodio anhidro.
- * Florisil, J.T. Baker.

-
- * Fibra de vidrio silanizada, J.T. Baker.
 - * N₂, ultra alta pureza, Infra.

Equipo:

- * Cromatógrafo de Gases, marca Perkin Elmer, modelo Autosystem GC.
- * Detector de Captura de Electrones, marca Perkin Elmer.
- * Columna capilar, PE-608, No. Catalogo N9316197, 30 m de longitud X 0.53 mm de diámetro interno X 0.83 µm de espesor de película.
- * Rota vapor Buchi RE-III / Water bath, modelo Buchi 461.
- * Balanza analítica, marca Sartorius, modelo 1773, capacidad 300 g.

4.3 Metodología.

La metodología a seguir para la realización del diseño experimental consta de cinco pasos principalmente, siendo estos:

1. Búsqueda de las condiciones óptimas de operación del Cromatógrafo de Gases.
2. Verificación del funcionamiento del Cromatógrafo de Gases.
3. Tiempo de agitación.
4. Método analítico.
5. Validación del método analítico.

4.3.1 Búsqueda de condiciones óptimas de operación del Cromatógrafo de Gases.

Utilizar solución patrón de 1 ppm de lindano (Polyscience Corporation, 95% pureza) para encontrar las condiciones óptimas de operación del instrumento.

4.3.2 Verificación del funcionamiento del Cromatógrafo de Gases Autosystem G.C.

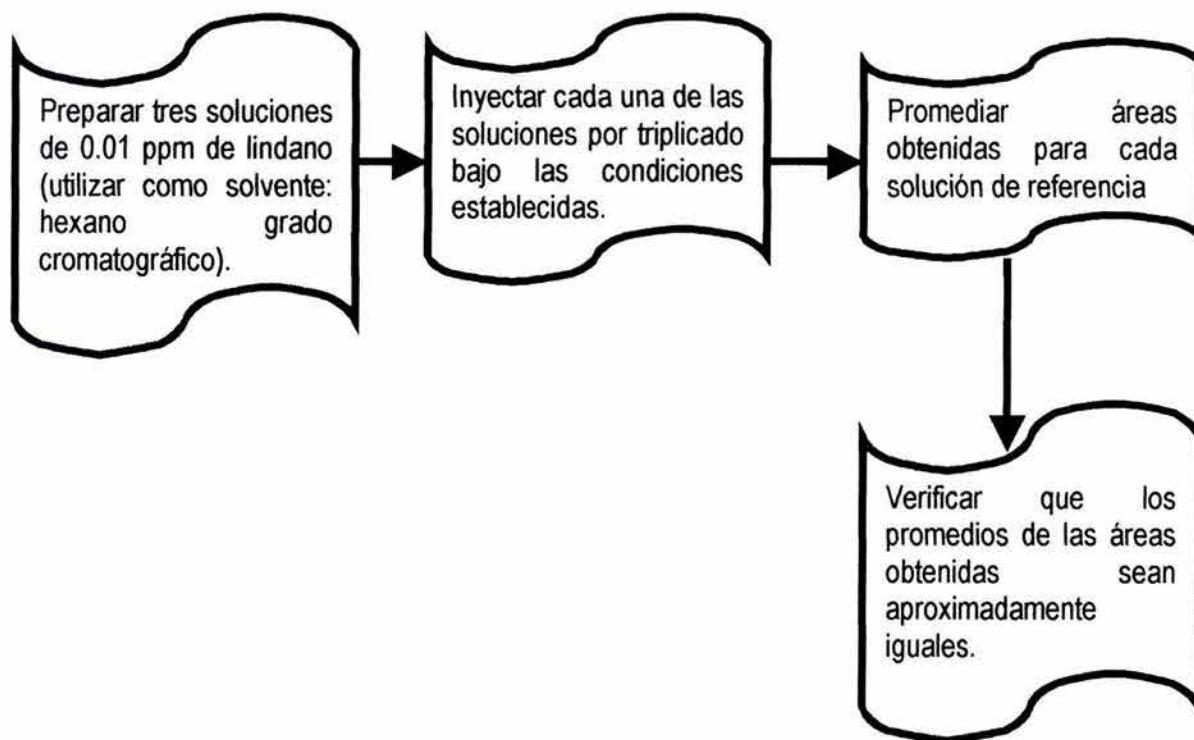


Figura 12. Diagrama de bloques de la verificación del funcionamiento del cromatógrafo de gases Autosystem.

Condiciones de Operación.

Columna capilar	PE-608, 30 m x 0.53 mm D.I X 0.83 μ m
Gas de arrastre y Make-up	N ₂ ultra alta pureza.
Inyector	Capilar
Detector	ECD
Inyección	On-Column

4.3.3 Tiempo de agitación.

Realizar la extracción de una solución patrón de 1 ppm de lindano y extraer por 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 min., hacer la extracción por duplicado.

4.3.4 Método analítico.

El método analítico constará de cinco pasos, los cuales son:

1. Extracción líquido – líquido.
2. Eliminación de interferencias.
3. Concentración de la muestra.
4. Eliminación de impurezas
5. Análisis cromatográfico

4.3.4.1 Extracción líquido - líquido.

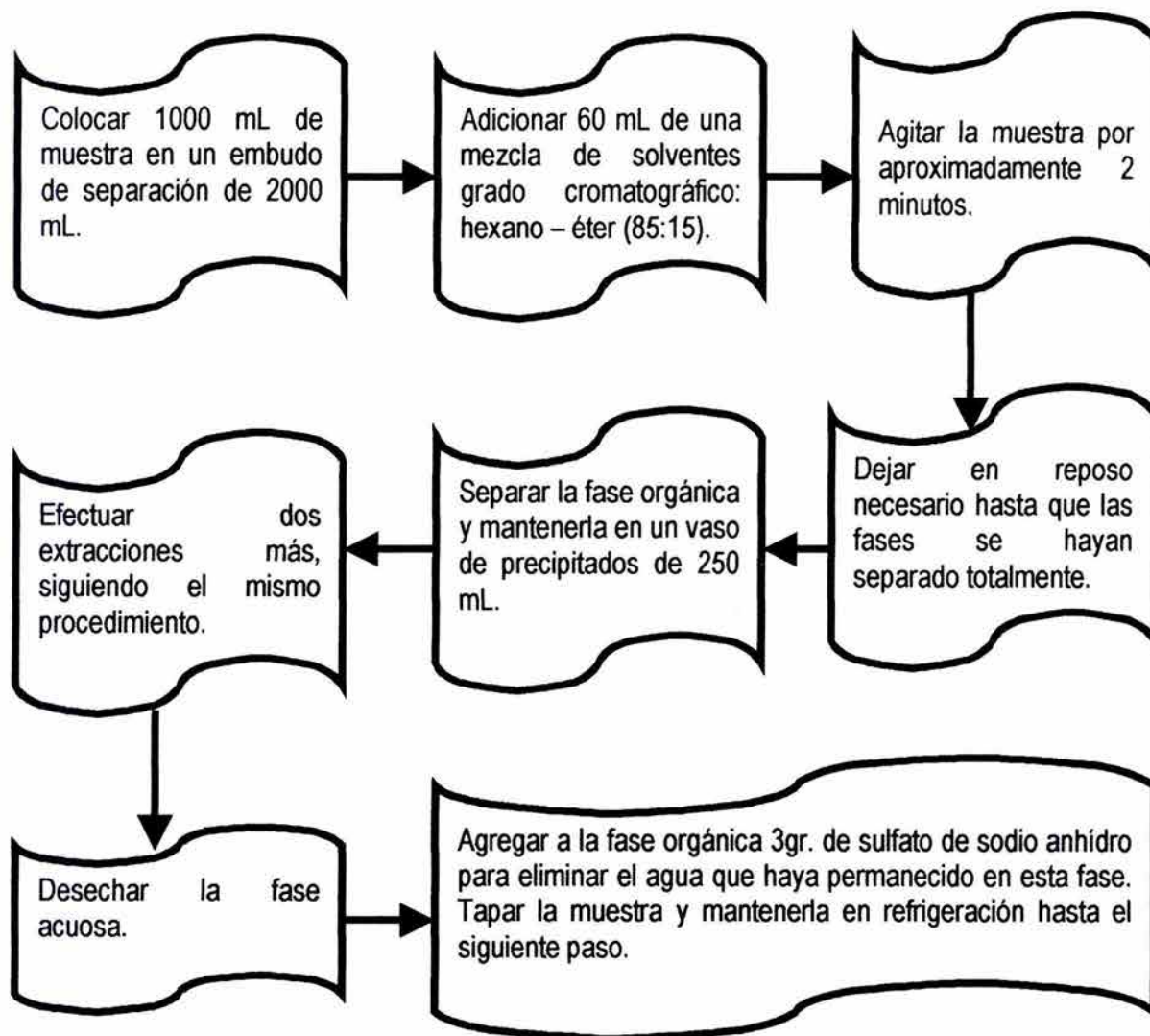


Figura 13. Diagrama de bloques extracción líquido-líquido.

4.3.4.2 Eliminación de interferencias.

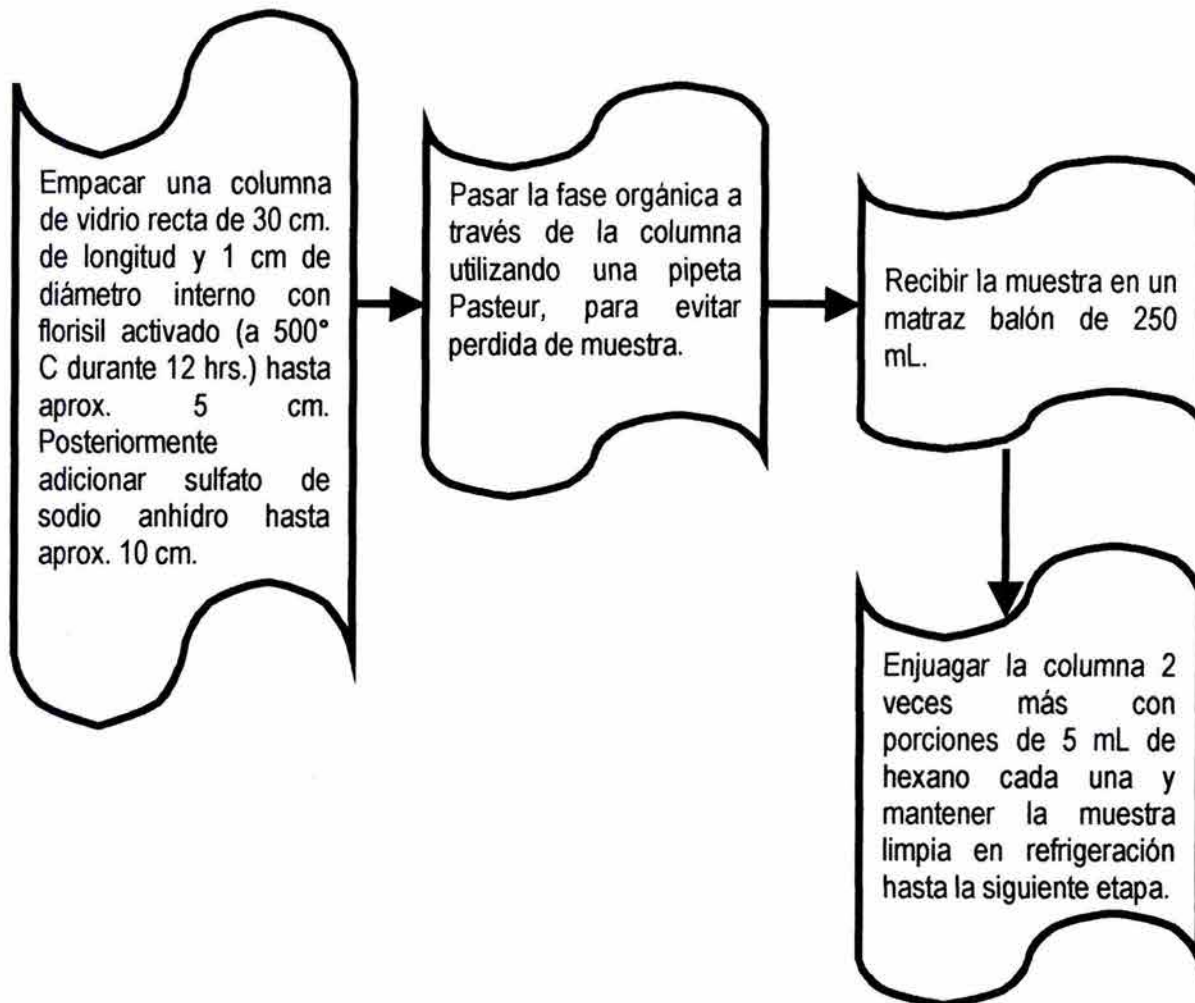


Figura 14. Diagrama de bloques eliminación de interferencias.

4.3.4.3 Concentración de la muestra.

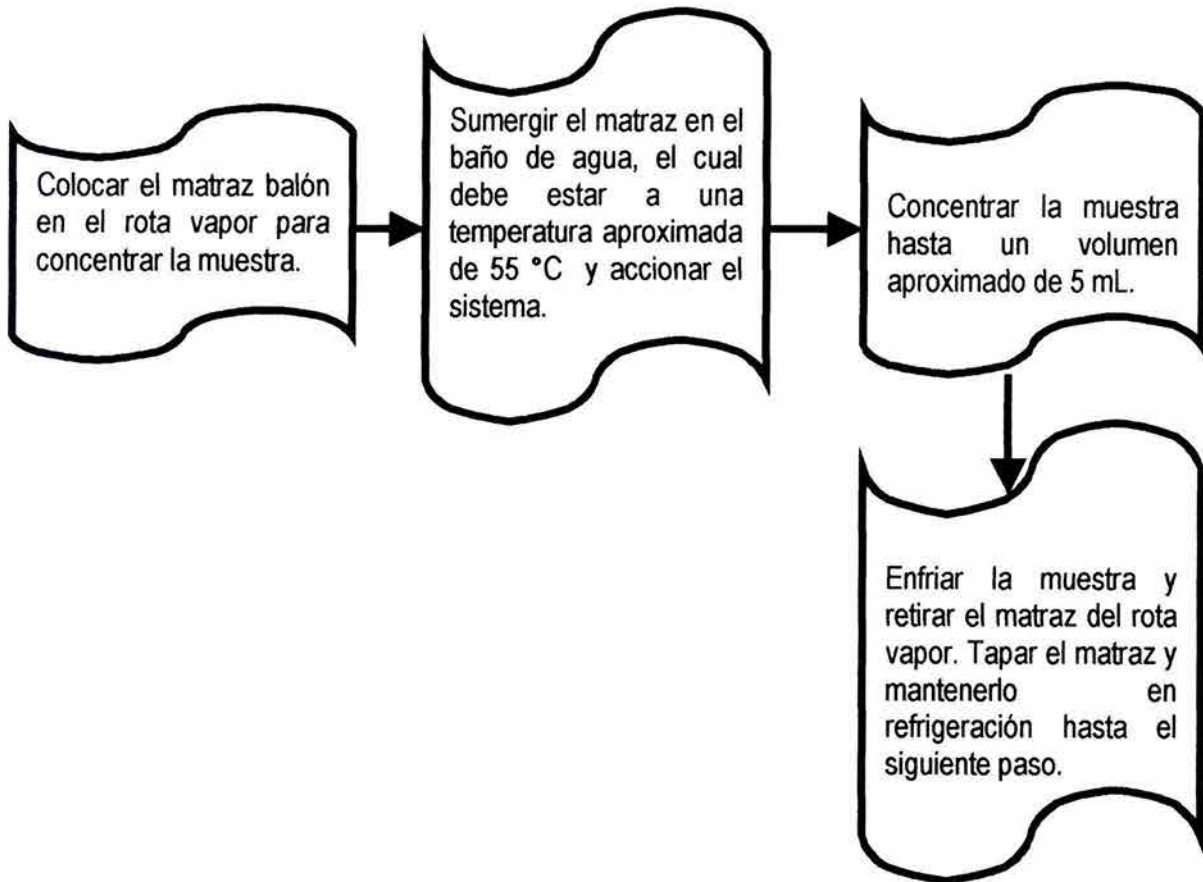


Figura 15. Diagrama de bloques concentración de la muestra.

4.3.4.4 Eliminación de impurezas.

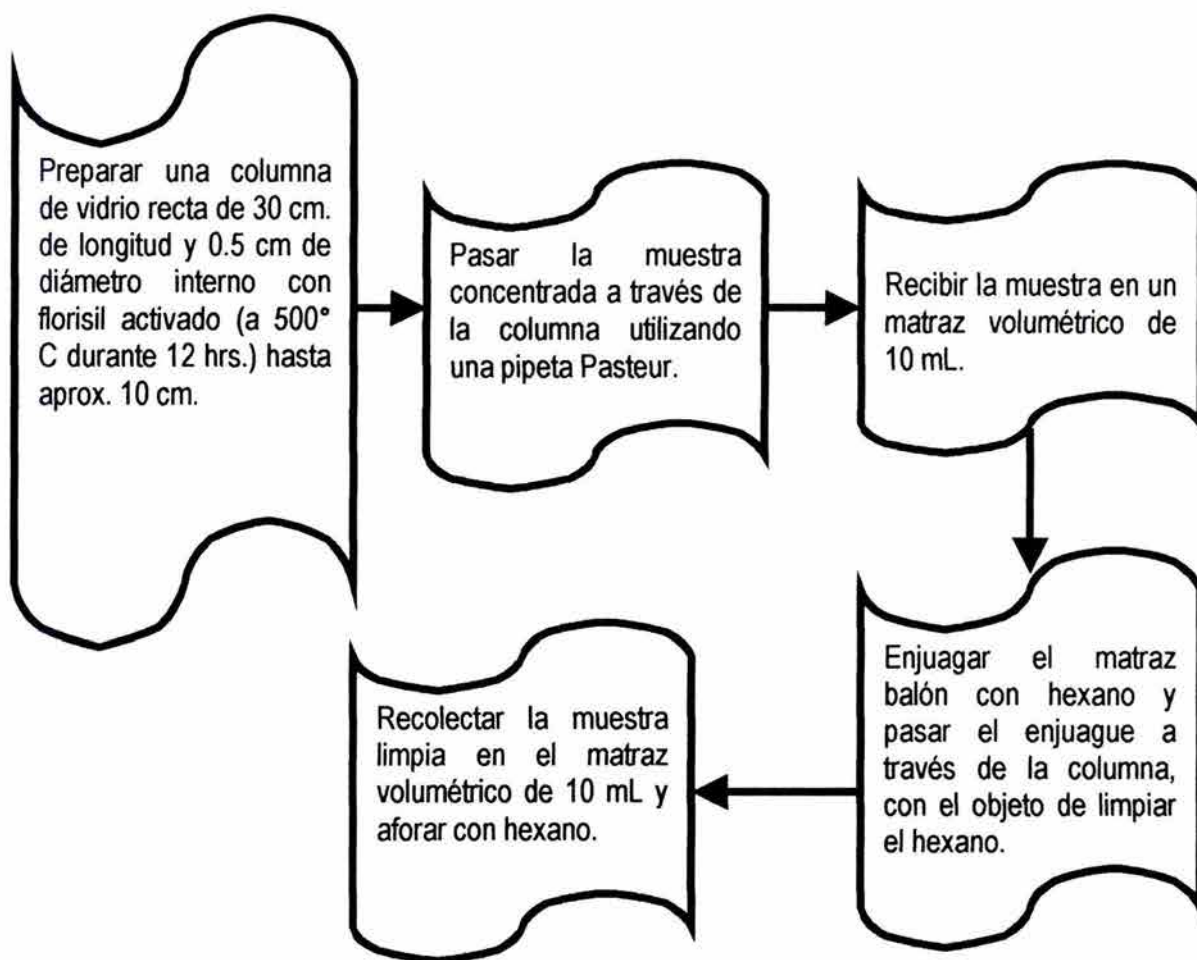


Figura 16. Diagrama de bloques eliminación de impurezas.

4.3.4.5 Análisis cromatográfico.

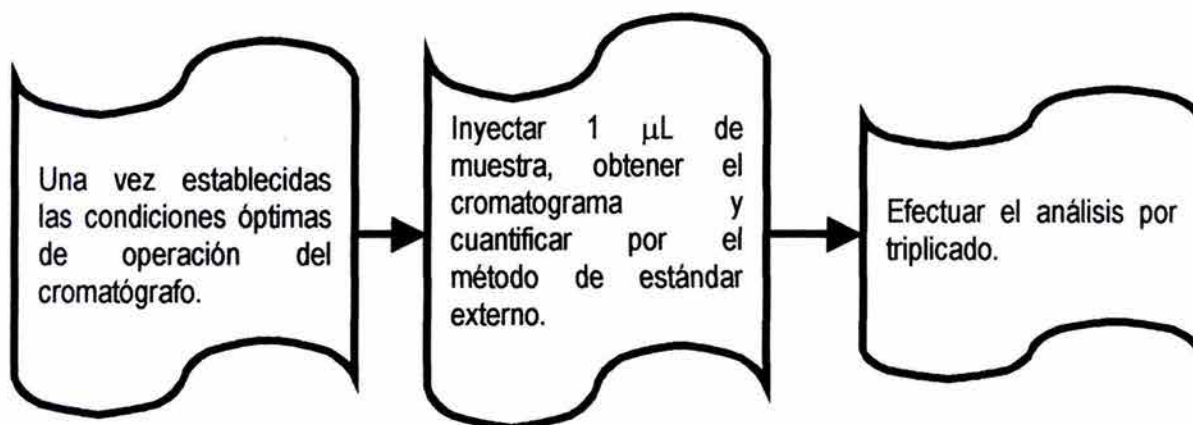


Figura 17. Diagrama de bloques análisis cromatográfico.

4.3.5 Validación del método analítico.

En esta parte del trabajo se validará el método utilizando uno de los plaguicidas en estudio, siendo este el lindano (Polyscience Corporation, 95% pureza).

La evaluación de los parámetros de validación, se resumen en diez pasos, siendo estos:

1. Preparación de solución patrón de lindano.
2. Linearidad.
3. Precisión del método.
4. Precisión del sistema.
5. Precisión para repetibilidad y reproducibilidad.
6. Exactitud.
7. Especificidad.
8. Límite de detección.
9. Límite de cuantificación.
10. Rango.

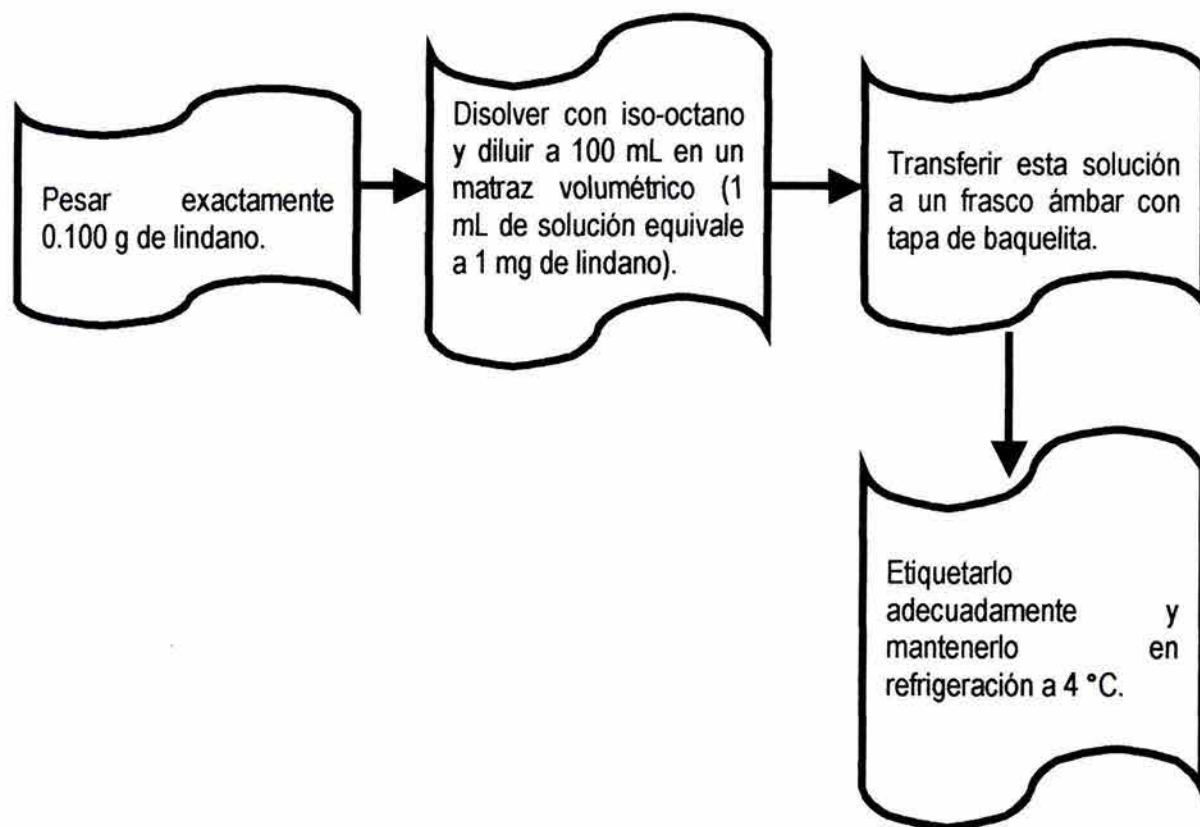
4.3.5.1 Preparación de solución patrón de lindano.

Figura 18. Diagrama de bloques preparación solución patrón de lindano.

4.3.5.2 Linearidad.

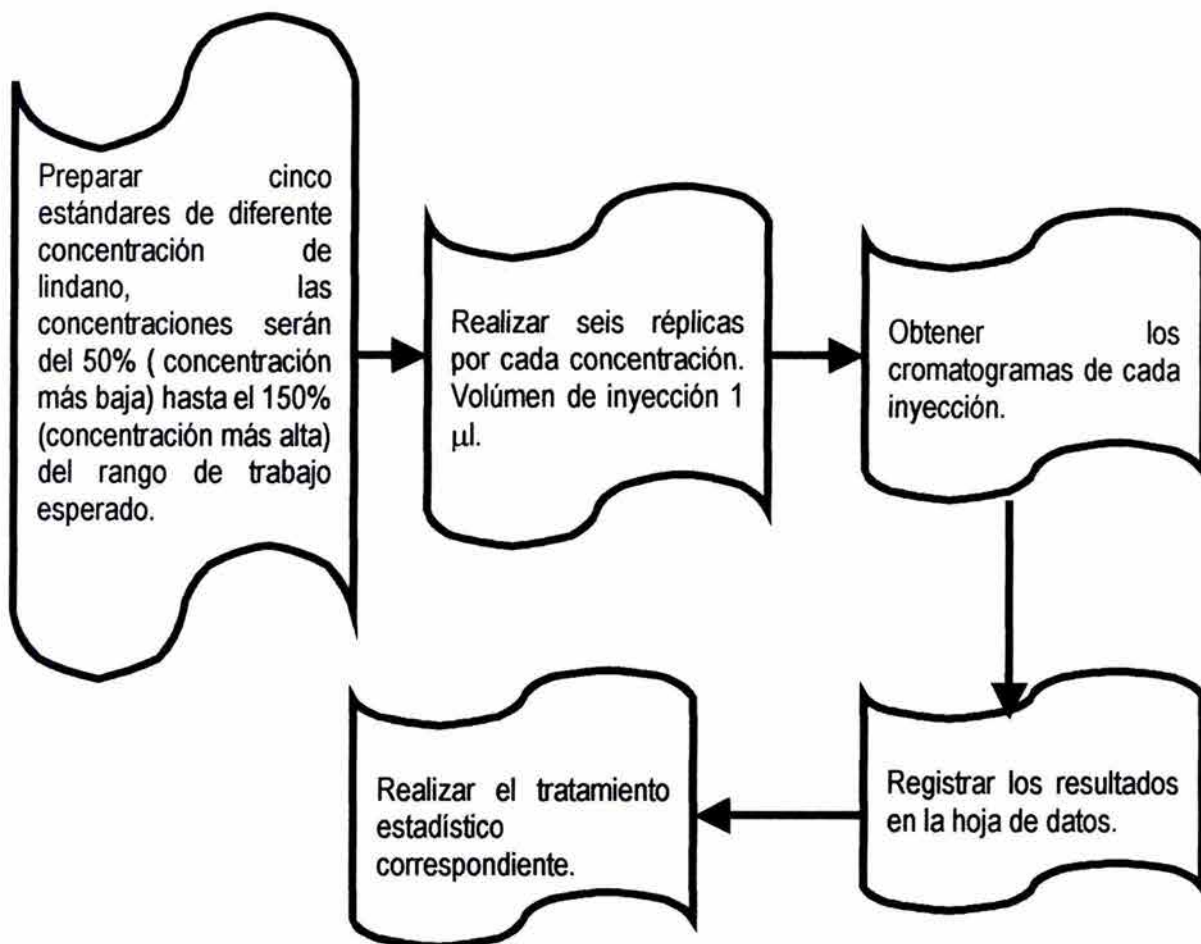


Figura 19. Diagrama de bloques linealidad.

Nota:

Los estándares deben prepararse en la misma matriz utilizada en la muestra.

4.3.5.3 Precisión del método.

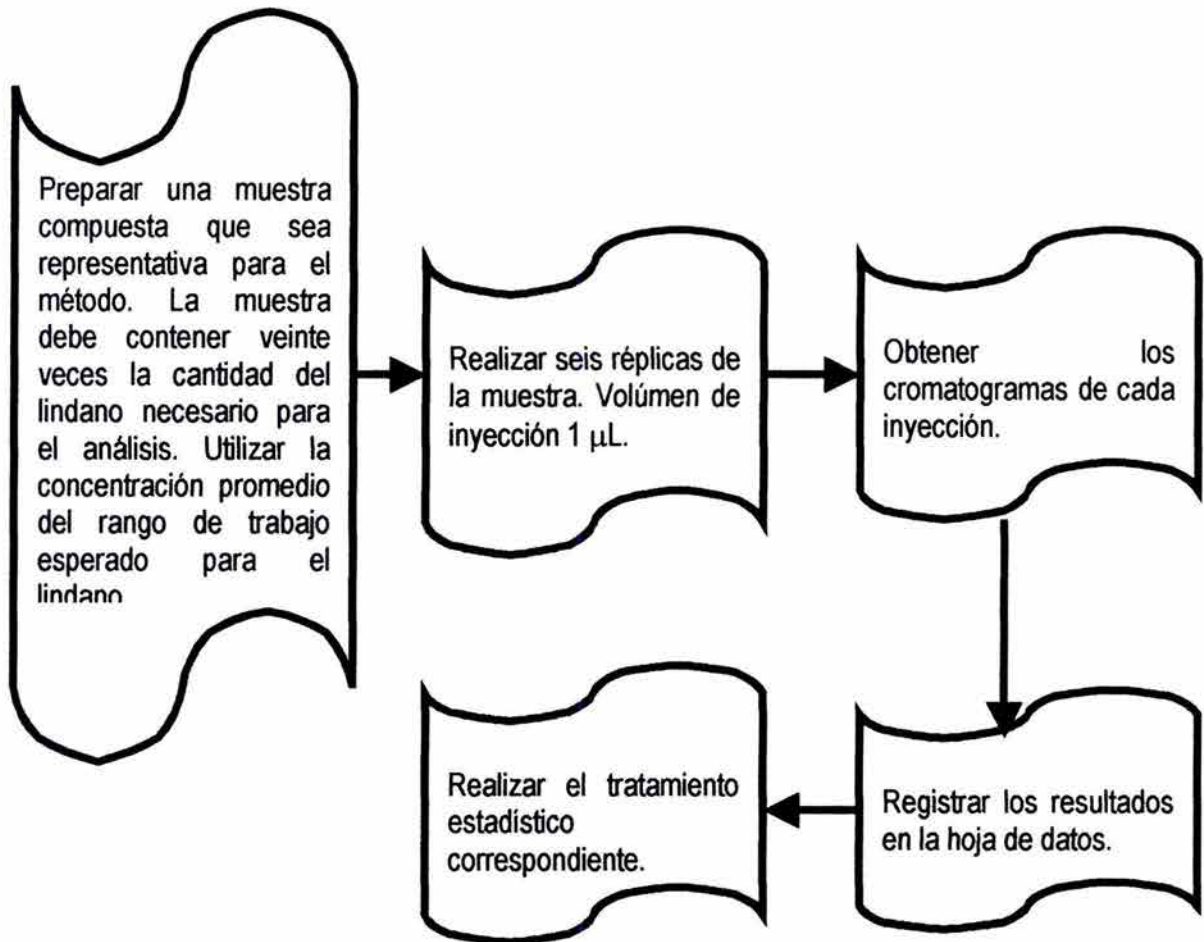


Figura 20. Diagrama de bloques precisión del método.

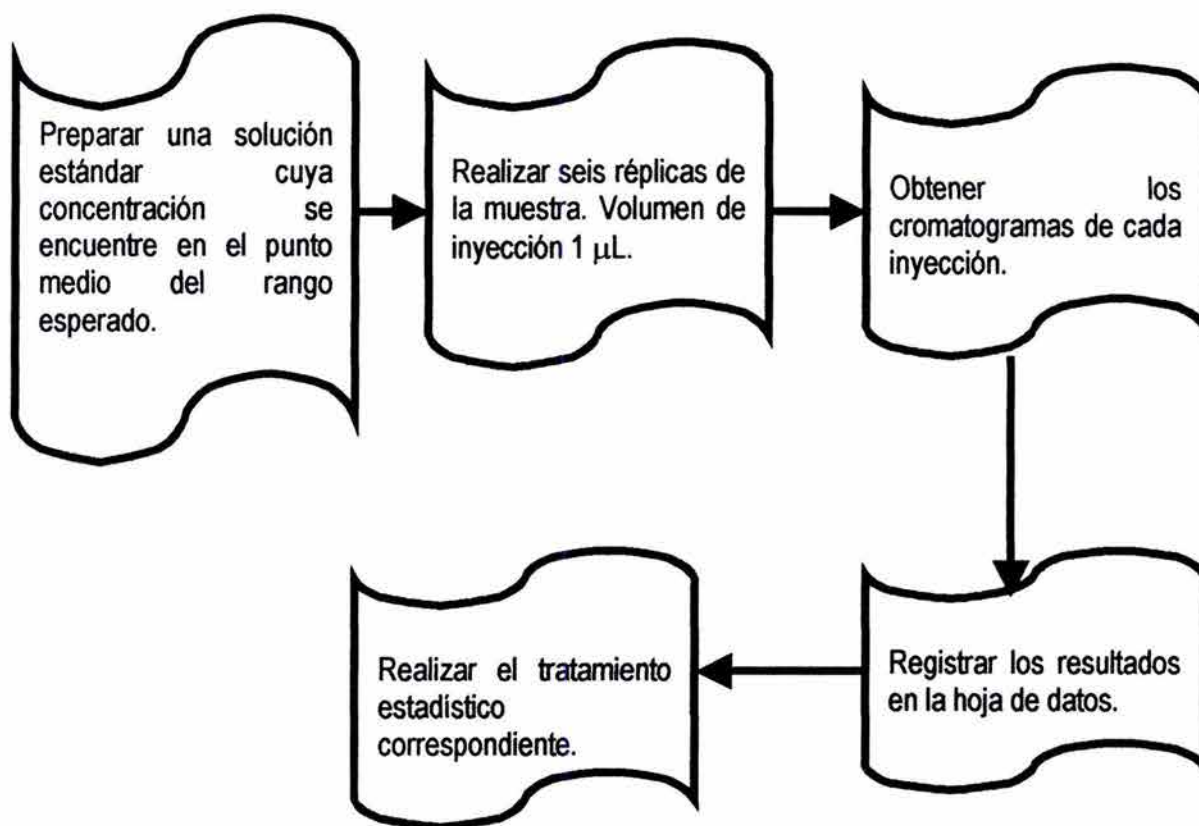
4.3.5.4 Precisión del sistema.

Figura 21. Diagrama de bloques precisión del sistema.

4.3.5.5 Precisión para repetibilidad y reproducibilidad.

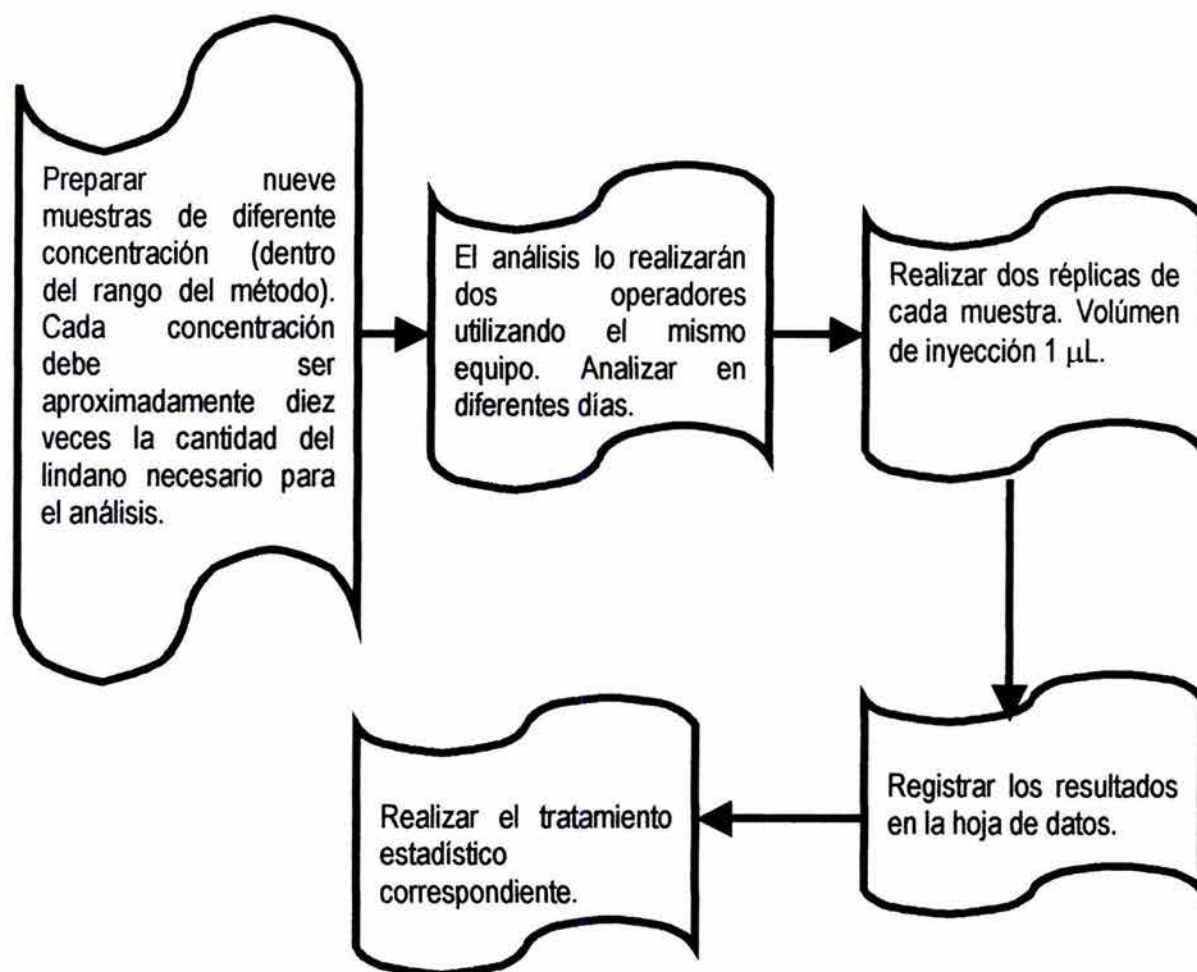


Figura 22. Diagrama de bloques repetibilidad y reproducibilidad.

4.3.5.6 Exactitud.

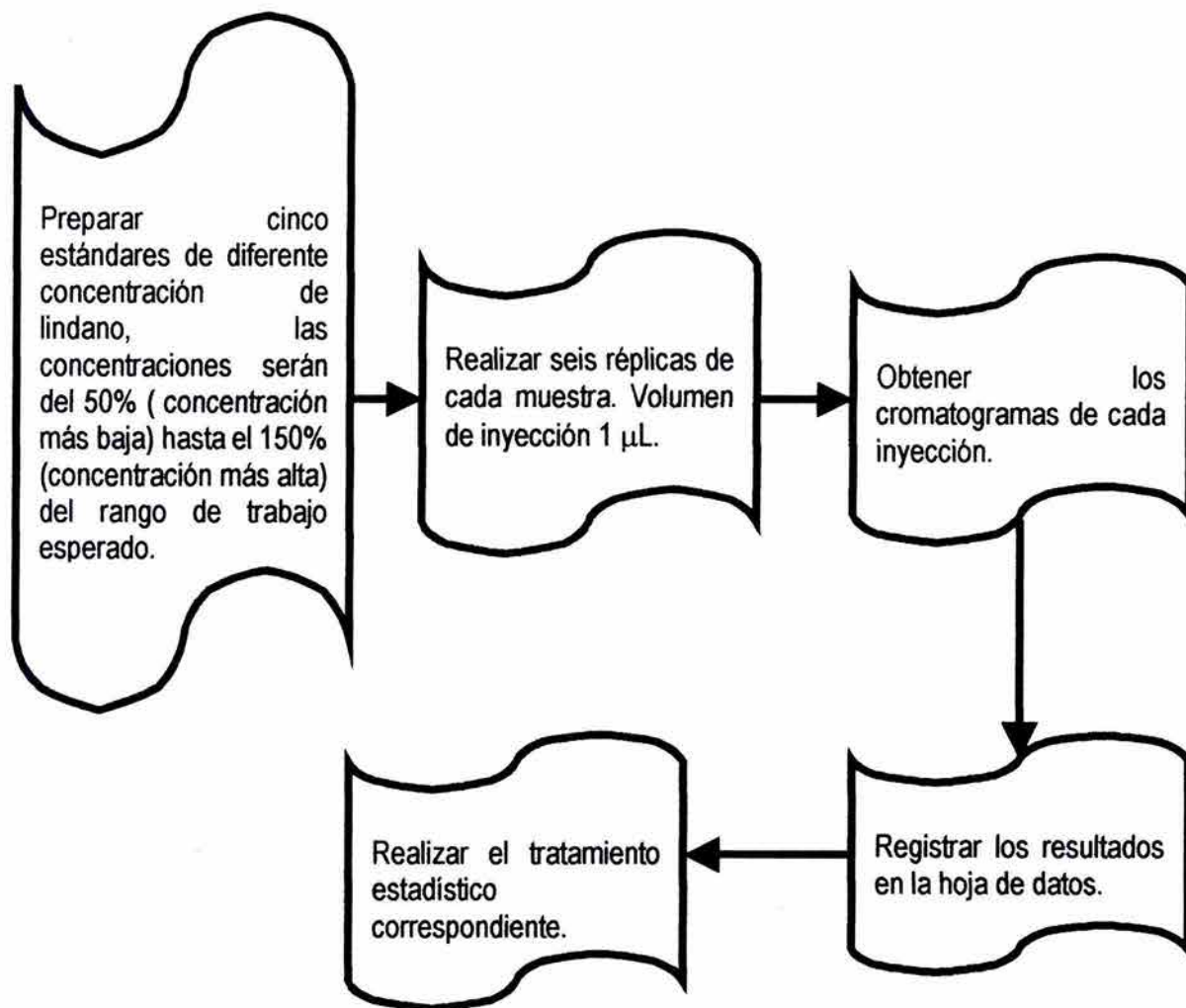


Figura 23. Diagrama de bloques exactitud.

4.3.5.7 Especificidad.

- * Imprimir los cromatogramas o los datos para mostrar la resolución del método.

4.3.5.8 Límite de detección.

- * Determinar la concentración más baja en la cual el lindano inmerso en la matriz de la muestra puede detectarse.
- * Imprimir los cromatogramas o registrar el valor de la concentración que es detectada.

4.3.5.9 Límite de cuantificación.

- * Determinar la concentración más baja a la cual el lindano inmerso en la matriz de la muestra puede determinarse con exactitud y precisión.
- * Imprimir los cromatogramas y registrar la concentración más baja cuantificable.

4.3.5.10 Rango

- * Revisar los resultados de la prueba para todos los componentes requeridos del método específico.
- * Registrar el rango en la hoja de datos.

5. RESULTADOS.

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En la parte cualitativa se resume mediante el análisis cromatográfico como producto de la aplicación de la Cromatografía de Gases de Alta Resolución, la cual nos ayuda a la identificación de los plaguicidas organoclorados en cuestión mediante la utilización de estándares primarios.

En cuanto a la parte de validación del método analítico para lindano, se presentan los datos estadísticos correspondientes a cada uno de los parámetros involucrados.

5.1 Análisis cualitativo

De acuerdo al diseño experimental los resultados obtenidos se presentan mediante los siguientes puntos:

1. Condiciones óptimas de operación del Cromatógrafo de Gases.
2. Verificación del funcionamiento del Cromatógrafo de Gases.
3. Tiempo de agitación.
4. Método analítico.

5.1.1 Condiciones óptimas de operación del Cromatógrafo de Gases.

Columna cromatográfica	PE-608 30 m (L) X 0.53 mm (D.I) X 0.83 μ m (film)		
Gas de arrastre y Make Up	N ₂ ultra alta pureza		
Flujo gas de arrastre	5 mL/min		
Temperaturas:			
Horno	Temperatura 1 = 140° C	Tiempo 1	= 2 min
	Relación 1 = 10 °C/min	Temperatura 2 = 240 ° C/ min	
	Tiempo 2 = 5 min	Relación 2 = 5 °C/min	
	Temperatura 2 = 265 °C	Tiempo 3 = 10 min	
inyector capilar	250° C		
Detector ECD	325° C		
Flujo Make Up	33 mL/min		

5.1.2 Verificación del funcionamiento del Cromatógrafo de Gases.

De acuerdo al método de extracción utilizado y a las condiciones óptimas de operación del Cromatógrafo de Gases, la metodología utilizada en esta verificación es adecuada para el análisis cualitativo y cuantitativo de los plaguicidas que se manejan en este estudio.

5.1.3 Tiempo de agitación.

De acuerdo a los tiempos de agitación utilizados se puede demostrar que con una agitación de 1 minuto o más se obtiene una recuperación del plaguicida de aproximadamente del 93 al 96 %.

5.1.4 Método analítico.

Los resultados obtenidos para el método analítico, se muestran de acuerdo a los pasos de que consta este.

5.1.4.1 Extracción líquido-líquido.

Para la extracción de los plaguicidas en cuestión, se realizaron modificaciones de la Norma Mexicana Norma Oficial Mexicana NOM-AA-71-1981 (Determinación de Plaguicidas Organoclorados - Método de Cromatografía de Gases) en cuanto al solvente utilizado (hexano), debido a que se obtuvieron mejores resultados con una mezcla de solventes (hexano - éter).

En caso de que este método de extracción se deseara utilizar para otro tipo de plaguicidas se deben realizar las pruebas pertinentes.

5.1.4.2 Eliminación de interferencias.

El florisil utilizado para la eliminación de interferencias funciona adecuadamente para evitar traslapamiento de componentes indeseables para obtener un análisis cualitativo y cuantitativo eficiente y confiable.

5.1.4.3 Concentración de la muestra.

En cuanto a la concentración de la muestra se puede decir que al utilizar un sistema de rota-vapor es suficiente para los fines deseados.

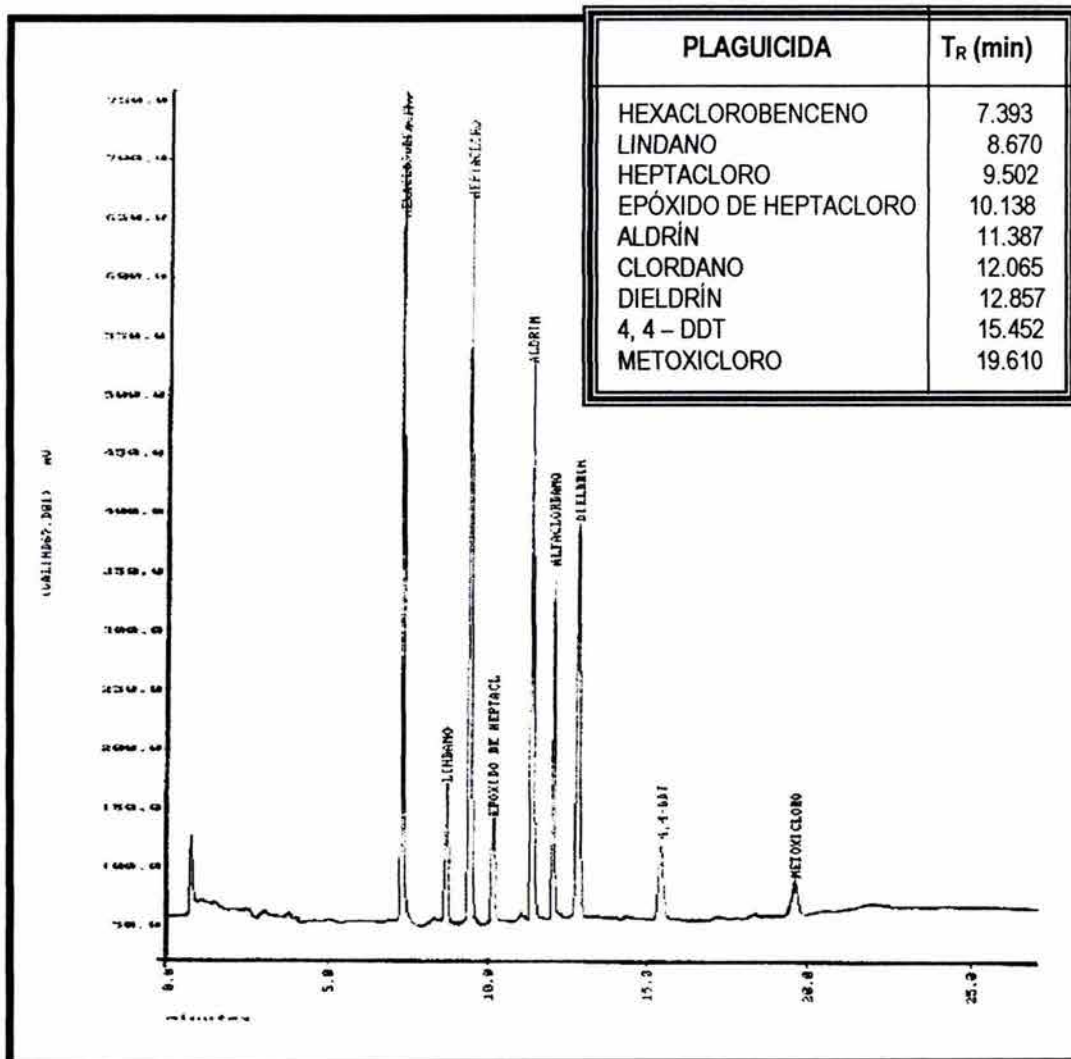
5.1.4.4 Eliminación de impurezas.

Después de haber concentrado los plaguicidas es necesario nuevamente la utilización del florisil para purificar aún más la muestra (este proceso debe realizarse tantas veces como sea necesario, si es que después de haber inyectado la muestra al cromatógrafo de gases se observan componentes que pudiesen estar enmascarando los plaguicidas que se determinan en este estudio).

5.1.4.5 Análisis cromatográfico.

En la Figura 24. se presenta el cromatograma de la mezcla estándar de plaguicidas.

File : VALIND67.D01 MEZCLA ESTANDAR DAVID FACHION R.
 Run : 01 Type : Sample
 Collection : 17:27:53 Jan 09 2004 Method : METODO2 i 17:22:25 Jan 09 2004



Los cromatogramas de los componentes individuales se presentan en el Anexo XI.

5.2 Validación del método analítico.

Los parámetros que se evalúan durante la validación son:

1. Linearidad.
2. Precisión para el método.
3. Precisión para el sistema.
4. Repetibilidad y Reproducibilidad del sistema (R & R).
5. Exactitud.
6. Especificidad.
7. Limite de detección.
8. Limite de cuantificación

A continuación se presenta la hoja de datos del método analítico y el reporte final de la validación del método, tomando en cuenta únicamente el plaguicida Lindano.

Documento 1. Resultados de prueba y reporte final.

Nombre del método: Método 2
 Número de método: Método 2
 Revisión del método:
 Equipo: Autosystem XL GC
 Analistas: David Pacheco Rodríguez
 Localización de datos: C:\CHROM\PERKIN*.D??

Número de validación: 1
 Día:

1. Linearidad

Nombre del archivo: Valind.DO1

Estándar Concentración:	0.2 ng Respuesta	0.3 ng Respuesta	0.4 ng Respuesta	0.5 ng Respuesta	0.6 ng Respuesta
Réplica 1	22305218	33337294	44752032	55667112	66324992
Réplica 2	22049722	33222656	44868092	55853008	66889000
Réplica 3	22300160	33152880	44046340	55547232	66438840
Réplica 4	22877467	33365802	44190376	55979232	66321888
Réplica 5	22019012	34133200	44139440	55352176	66151680
Réplica 6	22438295	33254172	44666936	55017600	66211776
Media	22331645.67	33411000.67	44443869.33	55569393.33	66389696
Desviación estándar	312475.7655	362144.38	357673.9856	349315.1013	264125.349
Desviación estándar relativa	1.399250956	1.083907613	0.8047768815	0.628610608	0.39784087

Ecuación de regresión = $y = a + b x$

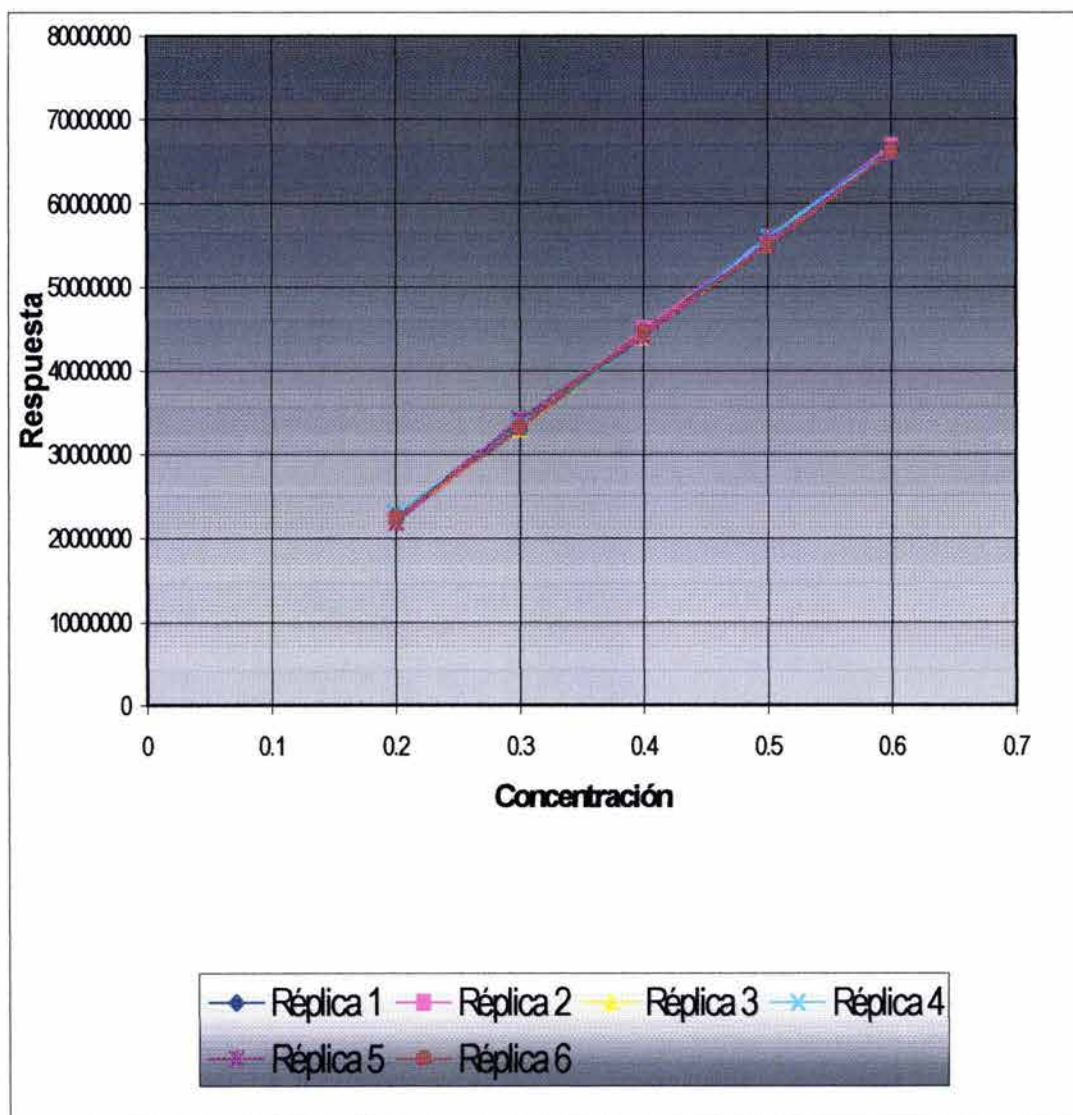
Donde: y = Respuesta; x = Concentración

Coefficiente de determinación (r^2)

Réplica	Ecuación de regresión $y = a + b x$	Coefficiente de determinación (r^2)
1	$y = 329583.2 + 110369366$	0.999930116
2	$y = -347067.6 + 112308908$	0.9999489729
3	$y = 28405.6 + 110671712$	0.9999505162
4	$y = 746044.2 + 109502272$	0.9997990938
5	$y = 565376.8 + 109484312$	0.9996749601
6	$y = 593599.8 + 109310390$	0.9999187178

Documento 1. Resultados de prueba y reporte final. (continuación).

Gráfica 1. Linearidad.



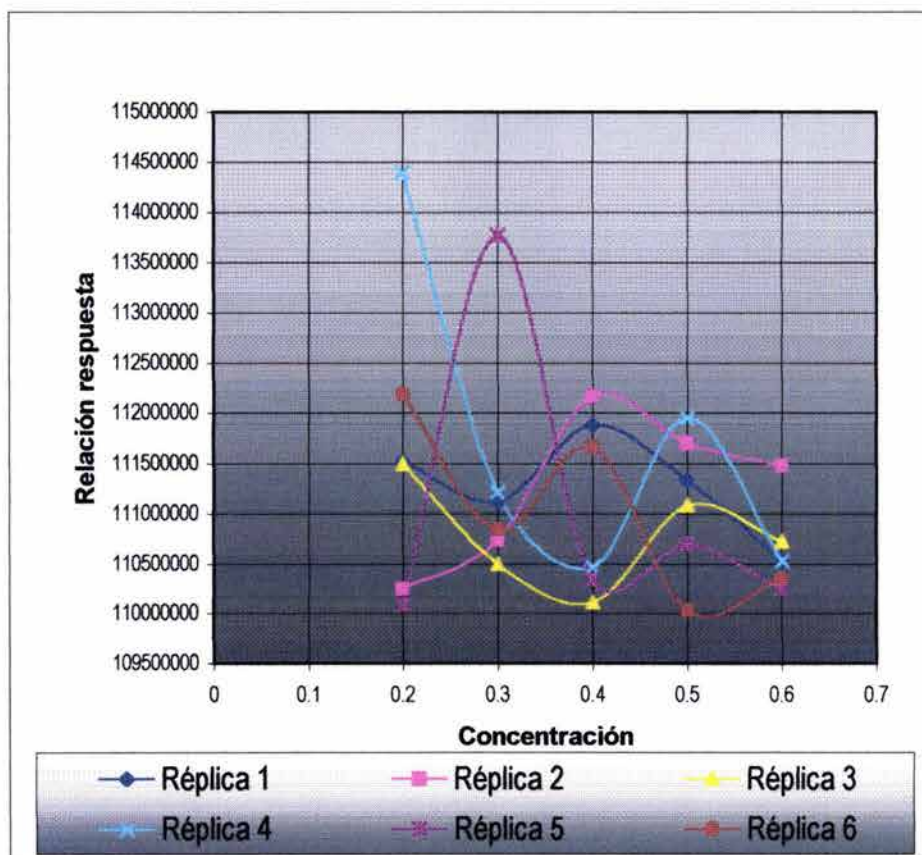
Documento 1. Resultados de prueba y reporte final. (continuación).

1.1 Relación de respuesta.

Estándar Concentración	0.2 ng Respuesta / Concentración	0.3 ng Respuesta / Concentración	0.4 ng Respuesta / Concentración	0.5 ng Respuesta / Concentración	0.6 ng Respuesta / Concentración
Réplica 1	111526090	111124313.3	111880080	111334224	110541653.3
Réplica 2	110248610	110742186.7	112170230	111706016	111481666.7
Réplica 3	111500800	110509600	110115850	111094464	110731400
Réplica 4	114387335	111219340	110475940	111958464	110536480
Réplica 5	110095060	113777333.3	110348600	110704352	110252800
Réplica 6	112191475	110847240	111667340	110035200	110352960

Relación de respuesta = Respuesta / Concentración

Gráfica 2. Relación de respuesta / Concentración



Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

2. **Precisión para el método**

Nombre del archivo: Valind.DO1

Concentración de muestra compuesta = 0.25 ng

Réplica	Valor
Réplica 1	39044663
Réplica 2	39045374
Réplica 3	38599610
Réplica 4	38778089
Réplica 5	39136320
Réplica 6	38960554
Réplica 7	39089770
Media	38950625.71
Desviación estándar	193538.6697
Desviación estándar relativa	0.4968820556

3. **Precisión del sistema**

Nombre del archivo: Valind.DO1

Concentración de solución estándar = 0.3 ng

Réplica	Valor Respuesta (área) Concentración = 0.3 ng
Réplica 1	33337294
Réplica 2	33222656
Réplica 3	33152880
Réplica 4	33365802
Réplica 5	34133200
Réplica 6	33254172
Media	33411000.67
Desviación estándar	362144.38
Desviación estándar relativa	1.083907613

Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

4. **Precisión – Repetibilidad y Reproducibilidad (R & R Tipo II).**

Nombre del método: Método 2
Equipo: Autosystem XL GC

Día:
Número de validación: 1

Operador: David Pacheco Rodríguez

	PRUEBA	CONCENTRACIÓN LINDANO (ng)									PROMEDIO
		0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55	0.60	
1	PRUEBA 1	22177470	27821456	33245087	39060018	44810062	49777846	55760060	61089040	66606996	
2	PRUEBA 2	22374941	26821107	33677928	38688849	44230736	50212602	55702172	61106538	66325080	
4	RANGOS	197471	1000349	432841	371169	579326	434756	57888	17498	281916	RA= 374801.5556
5	PROMEDIOS	22276205.5	27321281.5	33461507.5	38874433.5	44520399	49995224	55731116	61097789	66466039	XA= 44415999.33

Rango = (Prueba 1 – Prueba 2) para cada concentración

Promedio = (Prueba 1 + Prueba 2) / 2

$$RA = \frac{\sum_i^n \text{Rangos}}{\# \text{ Muestras}} \quad \# \text{ Muestras} = 9$$

$$XA = \frac{\sum_i^n \text{Promedios}}{\# \text{ Muestras}} \quad \# \text{ Muestras} = 9$$

Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

Operador: Bertha Cruz Muñoz

	PRUEBA	CONCENTRACIÓN LINDANO (ng)								PROMEDIO	
		0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55		0.60
1	PRUEBA 1	22548239	27699002	33507611	38933929	44432896	49952104	55188416	60890585	66466002	
2	PRUEBA 2	22369227	27676847	33330246	38996974	44621479	49965224	55445294	61124036	66395541	
3	RANGOS	179012	22155	177365	63045	188583	13120	256878	233451	70461	RB 133785.5556
4	PROMEDIOS	22458733	27687924.5	33418928.5	38965451.5	44527187.5	49958664	55316855	61007310.5	66430771.5	XB 44419091.78

Rango = (Prueba 1 – Prueba 2) para cada concentración

Promedio = (Prueba 1 + Prueba 2) / 2

$$RB = \frac{\sum^n \text{Rangos}}{\# \text{ Muestras}} \quad \# \text{ Muestras} = 9$$

$$XB = \frac{\sum^n \text{Promedios}}{\# \text{ Muestras}} \quad \# \text{ Muestras} = 9$$

		CONCENTRACIÓN LINDANO (ng)									
		0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55		0.60
5	Xi	22367469.25	27504603	33440218	38919942.5	44523793.25	49976944	55523985.5	61052549.75	66448419.75	X= 44417547.22
6		(66448419.75 – 22367469.25)								Rp= 44080950.5	

Xi = (Promedio Operador 1 + Promedio Operador 2) para una misma concentración

$$X = \frac{\sum^n Xi}{\# \text{ Muestras}} \quad \# \text{ Muestras} = 9$$

Rp = Limite superior de Xi – Limite inferior Xi

$$R = (RA + RB) / \# \text{ Operadores} = (374801.5556 + 133785.5556) / 2 = 254293.5556$$

Donde # Operadores = 2

$$Xdif = (\text{Max} - \text{Min}) = (44419091.78 - 44415999.33) = 3092.45$$

$$LSCR = R \times D4 = (254293.5556 \times 3.27) = 831539.9268$$

Donde D4 = 3.27 para 2 pruebas y 2.58 para 3 pruebas

$$LICR = (R \times D3) = (254293.5556 \times 0) = 0 \quad \text{Donde } D3 = 0 \text{ hasta 7 pruebas}$$

Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

Análisis de la unidad de medición.

Repetibilidad – Variación del equipo (V.E)

$$V.E = R \times K1 = (254293.5556) (4.56) = 1159578.614$$

Donde K1 = 4.56 para 2 pruebas y 3.05 para tres pruebas

$$\% V.E = 100 (V.E / T.V) = 100 (1159578.614 / 73624319.56) = 1.5749 \%$$

Donde:

$$T.V = \sqrt{(V.E)^2 + (P.V)^2} = \sqrt{(1159578.614)^2 + (73615187.34)^2} = 73624319.56$$

Donde:

$$P.V = R_p \times K3 = (44080950.5) (1.67) = 73615187.34$$

K3 = 1.67 para 9 muestras

Reproducibilidad – Variación del operador (V.O)

$$V.O = \sqrt{(\bar{X}_{dif} \times K2)^2 - ((V.E)^2 / NI)} = \sqrt{(3092.45 \times 3.65)^2 - ((1159578.614)^2 / (9 \times 2))}$$

$$V.O = 0$$

Donde: N= Número de lecturas (9 lecturas) I = Número de pruebas (2)

$$\% V.O = 100 (V.O / T.V) = 100 (0 / 73624319.56) = 0$$

Repetibilidad y Reproducibilidad (R & R)

$$R \& R = \sqrt{(V.E)^2 + (V.O)^2} = \sqrt{(1159578.614)^2 + (0)^2} = 1159578.614$$

$$\% R \& R = 100 (R \& R / T.V) = 100 (1159578.614 / 73624319.56) = 1.5749 \%$$

Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

5. **Exactitud**

Nombre del archivo: Valind.DO1

Muestra Concentración:	0.25 ng	0.30 ng	0.40 ng	0.45 ng	0.55 ng
Réplica 1	27859620	33502487	44230081	49467872	61408900
Réplica 2	27386800	33792867	43449628	50022621	61381065
Réplica 3	27067846	33115076	44147062	49049521	60958045
Réplica 4	27496096	33024633	44449614	49659242	61403612
Réplica 5	27440736	33502876	44304212	49265002	61040089
Réplica 6	26992896	33332450	43286214	49932612	61385024
Media	27373999	33378398.17	43977801.83	49566145	61262789.17
Desviación estándar	314427.1808	282586.8681	485531.7703	379099.0372	206191.3189
Desviación estándar relativa	1.148634442	0.8466160259	1.104038288	0.7648346209	0.3365686115
% de recuperación	95.7	94.8	96.0	95.1	93.0

6. **Especificidad**

Nombre del archivo: Valind60.DO1
Valind67.DO1

Definir:

El método analítico es capaz de distinguir y medir el plaguicida en cuestión (lindano) sin interferencia de los demás componentes de la matriz como por ejemplo las impurezas, esto se muestra en la resolución con las impurezas en la parte cualitativa figuras 24 y 33.

7. **Límite de detección**

Nombre del archivo: Valind52.DO1

Concentración más baja detectable = 0.0006 ng

8. **Límite de cuantificación**

Nombre del archivo: Valind40.DO1

Concentración más baja cuantificable = 0.002 ng

Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

9. **Rango** Nombre del archivo: Valind.DO1

Rango: 0.2 – 0.6 ng

Evaluación.

En esta parte del reporte se evalúan los siguientes parámetros de acuerdo a los criterios de aceptación de cada parámetro.

1. **Linealidad.**

Criterio de aceptación:

La curva en la gráfica 1 debe ser lineal con una r^2 de al menos 0.98.

Experimentalmente tenemos una r^2 de 0.99.

2. **Precisión para el método.**

Criterio de aceptación:

La desviación estándar relativa debe ser al menos del 2%.

Experimentalmente tenemos una desviación estándar relativa 0.4968 %

3. **Precisión para el sistema.**

Criterio de aceptación:

La desviación estándar relativa debe ser al menos del 2%.

Experimentalmente tenemos una desviación estándar relativa 1.0839 %

4. **Repetibilidad y Reproducibilidad del sistema (R & R).**

Criterio de aceptación:

Valores menores al 15% son aceptables.

Experimentalmente tenemos una desviación estándar relativa 1.5749 %

Documento 1. **Resultados de prueba y reporte final.** (continuación).

5. Exactitud.

Criterio de aceptación:

El porcentaje de recuperación debe estar en un rango del 90 al 110 % del valor teórico.

Experimentalmente tenemos un porcentaje de recuperación aproximado del 94.92 %

6. Especificidad.

Criterio de aceptación:

Los compuestos contaminantes no deben interferir con el análisis del analito estudiado.

El método analítico es capaz de distinguir y medir el plaguicida en cuestión (lindano) sin interferencia de los demás componentes de la matriz como por ejemplo las impurezas, esto se muestra en resolución con las impurezas en la parte cualitativa figuras 24 y 33.

7. Límite de detección.

Criterio de aceptación:

No existe un límite mínimo detectable.

8. Límite de cuantificación

Criterio de aceptación:

El límite de cuantificación para métodos cromatográficos se describe como la concentración que proporciona una señal-ruido de 10:1.

Conclusión.

De acuerdo a los criterios de aceptación de cada parámetro analizado, se concluye que el método está validado.

Completado por	Fecha
David Pacheco Rodríguez	03/02/2004

Revisado por	Fecha
Bióloga Maricela Arteaga Mejía	18/02/2004

Aprobado por	Fecha
Bióloga Maricela Arteaga Mejía	18/02/2004

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

De acuerdo a los solventes existentes en el Laboratorio y a las propiedades físicas y químicas de los plaguicidas se obtuvieron mejores resultados en la extracción líquido-líquido utilizando una mezcla de hexano-éter (85:15).

Se observó que para la eliminación de interferencias el uso de florisil comercial grado cromatográfico no es necesaria la desactivación y posterior activación como lo indica la Norma Oficial Mexicana (NOM-AA-71-1981), ya que con someterlo a calentamiento durante 12 horas en una mufla a 500 °C es suficiente para obtener buenos resultados.

En la búsqueda de las condiciones óptimas de operación del Cromatógrafo de Gases y después de algunos ensayos con isotermas se decidió utilizar rampas de temperatura obteniendo una mejor resolución para una mezcla de los estándares de interés y la mejor respuesta con las condiciones mostradas en los resultados. El mismo procedimiento se siguió para encontrar la temperatura del inyector y detector, así como el flujo del gas de acarreo y del auxiliar (make-up).

En la validación del método se proveen los datos necesarios para confirmar que se trata de un método sencillo, rápido y confiable para la determinación de plaguicidas organoclorados en agua potable.

7. CONCLUSIONES.

1. Para la extracción líquido – líquido de los analitos estudiados, el uso de la mezcla de solventes hexano – éter (85:15) proporciona un porcentaje de recobro del 94.92%, el cual se encuentra dentro del rango de aceptación para este parámetro.
2. El uso de florisil activado como se indica en el método no causa ningún problema en la eliminación de interferencias y limpieza de la muestra.
3. Las condiciones óptimas de operación propuestas para el manejo del sistema cromatográfico son las indicadas para la obtención de una capacidad de resolución de los plaguicidas que son sometidos a este análisis, debido a que no existen traslapamientos entre ellos, además de que no hay enmascaramiento por posibles interferencias existentes en la matriz.
4. El método desarrollado para determinar la concentración de plaguicidas organoclorados en el Laboratorio del Agua se considera adecuado para la cuantificación en el nivel de nanogramos o incluso picogramos, dependiendo del sistema cromatográfico empleado, según se observa en el cálculo del límite de detección y cuantificación durante la validación.
5. La validación del método para lindano aporta la información necesaria para considerar que el método ofrece linealidad, precisión tanto para el método como para el sistema; así como repetibilidad y reproducibilidad, por lo que es confiable, específico y exacto para lindano.

8. REFERENCIAS.

- Abbott D., Andrews R.S. (1983 [1966]) *Introducción a la Cromatografía*. México, Alhambra.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [1993]) *Reseña Toxicológica del Heptacloro y el Epóxido de heptacloro*. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [1994]) *Reseña Toxicológica del Clordano*. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [1999]) *Reseña Toxicológica del Alfa, Beta, Gama y Delta – Hexaclorociclohexano*. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [2002]) *Reseña Toxicológica del Aldrin / Dieldrin*. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [2002]) *Reseña Toxicológica del DDT / DDE / DDD*. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [2002]) *Reseña Toxicológica del Hexaclorobenceno*. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, ATSDR, ed. (2003 [2002]) *Reseña Toxicológica del Metoxicloro*. Atlanta, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Agilent Technologies (2000) *Consumables and Accessories Catalog*. U.S.A,
- Aguiar M. R. (1991) *Efecto de la Fase Portadora sobre los máximos de las Distribuciones Cromatográficas*. Toluca, Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química. Tesis de Licenciatura.
- Alawi M.A. (1996) *Levels of Organochlorine Pesticides in fish, algae, sediments and sea water samples in the agaba gulf*. Chem Abs., 125:1228229 N.10.
- Amaral O.C., Otero R., Grimalt J.O., Albaiges J. (1996) *Volatile and Semivolatile Organochlorine compounds in tap and riverine waters in the area of influence of chlorinated organic solvent factory*. Chem Abs. 125:122965p N.10, Water Research 30, 1876-1884.
- Arias V. J. A. (1990) *Plaguicidas Organoclorados*. México, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud.
-

-
- Blanco G. (s.f) *Curso Básico de Cromatografía de Gases*. México, Perkin Elmer, documento no publicado.
- Brook G.T. (1979) *Chlorinated Insecticides*. Florida, CRC Press Inc.
- Buffington R., Wilson M.K. (1991 [1987]) *Detectors for Gas Chromatography*. USA, Hewlett Packard Co.
- CE Instruments (1997) *Electron Capture Detector. Boletín 801*. ThermoQuest Corporation.
- Centro Nacional de Metrología, CENAM (1999 [1994]) *Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio. Modulo III, Repetibilidad y reproducibilidad*. México, Publicación Técnica CNM-MRD-PT-008.
- Cobbett W. (1992) *The Developing Role of Pesticides and other Agrochemicals*. London, British Medical Association.
- Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, CICOPLAFEST (1995), Catálogo Oficial de plaguicidas. México, CICOPLAFEST.
- Dabrio M.V, et al. (1973) *Cromatografía de Gases*. Madrid, John Wiley.
- Dirección General de Normas, DGN (1981) *Norma Oficial Mexicana NOM-AA-71-1981, Analysis of Water – Determination of Organochlorine Pesticides Gas Chromatography Method*. México, Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial.
- Dirección General de Normas, DGN (1994) *Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental, Agua para uso y consumo humano – Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. México, Secretaría de salud.
- Ellenhorn M. J., Barceloux D.G. (1988) *Medical Toxicology: Diagnosis and treatment of human poisoning*. New York, Elsevier.
- Gas Chromatography (2002) [En línea] página web. *Sample injection*.
<<http://www.gaschromatography.com/sample.asp>
- Gary C. (1981) *Química Analítica*. México, Interamericana.
- Giral, et al., eds. (1991) *Validación de Métodos Analíticos*. México, Comité de Elaboración de la Dirección General de Insumos para la Salud, SSA.
- Greenfield (2004) [En línea] página web. *Detectors*.
<<http://www.greenfield.fortunecity.com/mother/445/chromatography/chrompage13a.html>
- Greenfield (2004) [En línea] página web. *Inyectors*.
<<http://www.greenfield.fortunecity.com/mother/455/chromatography/chrompage12e.html>
-

-
- Gudzinowicz B.J. (1967) *Gas Chromatographic Analysis of Drugs and Pesticides*. New York, Marcel Dekker, Inc.
- Gunter Z. (1976) *Pesticides and Plant Growth Regulators*. New York, Academic Press.
- Gutiérrez R. (s.f) *Manual de Curso Básico de Cromatografía de Líquidos*. México, Perkin Elmer, documento no publicado
- Hammastrand K. (1981) *Organochlorine Pesticides in Waste and Drinking*. New York, Varian Instrument at work, 58, 1-10.
- Huber L. (1994 [1993]) *Good Laboratory Practice and Current Good Manufacturing Practice*. Alemania, Hewlett Packard.
- Jeffrey P.G. (1972) *Gas Analysis by Gas Chromatography*. Oxford, Pergamon Press.
- Johnson J., Van G. (1996) *Analytical Method Validation*. USA, Journal of Validation Technology.
- Joseph P.N. (1976) *Métodos Clásicos de Separación*. México, ANUIES.
- Knoll J.E. (1985) *Estimation of the limit of Detection in Chromatography*. USA, North Carolina, US Environmental Protection Agency.
- Lewis R.G. (2000) *Pesticides*. New York, Mc Graw- Hill.
- Littlewood A.B. (1970) *Gas Chromatography Principles Techniques and Applications*. New York, Academic Press.
- Marcilla G.A. (1999) *Introducción a las Operaciones de Separación*. España, Universidad de Alicante.
- Perkin Elmer Instruments (2002) *Clarus 500 GC - Hardware Guide*. USA, Perkin Elmer Instruments LLC.
- Praxair (s.f) *Gases para Instrumentación*. México, Praxair.
- Rodier J. (1990) *Análisis de las Aguas*. Barcelona, Ediciones Omega.
- Semarnap (1996) *Serie Plaguicidas 1 - Lo que usted debe saber sobre los plaguicidas*. México, Semarnap.
- Semarnap (1996) *Serie Plaguicidas 2 - ¿ Porqué, para qué y como se evalúan los riesgos para la salud y el ambiente de los plaguicidas ?*. México, Semarnap.
- Semarnap (1996) *Serie Plaguicidas 4 - Lo que usted debe saber sobre la gestión de los plaguicidas en México*. México, Semarnap.
- Sherma J. (1983) *Pesticides*. USA, Anal. Chem.
-

-
- Skoog A.D., James F.H., Newman T.A. (2001) *Principios de Análisis Instrumental*. España, Mc Graw Hill.
- Sorch J.M. (1975) *Fundamentos de Cromatografía de Gases*. Barcelona, Alambra.
- Supelco (1996) *Productos para Cromatografía*. USA, Sigma Aldrich Química.
- Universidad Regiomontana, Ur (2004) [En línea] página web. *Sistema Cromatográfico*.
<<http://www.ur.mx./cursos/diya/quimica/jescobed/images/croma4.jpg>
- Valcarcel M.C., Gómez A.H. (1994) *Técnicas Analíticas de Separación*. España, Reverté.
- Varian (2000) *Curso Básico de Cromatografía de Gases*. USA, Varian Chromatography Systems.
- Vega S. (1988) *Evaluación Epidemiológica de Riesgos Causados por Agentes Químicos Ambientales*. México, Limusa.
- Willard H., Merrit L.L., Dean J.A., Settle F.A. (1981[1988]) *Métodos Instrumentales de Análisis*. México, Grupo Editorial Iberoamérica.
- Windholz M., Budavari S., Blumetti R., Ottherbein E. (1983 [1889]) *The Merck Index*. Nueva York, Merck & Co., Inc.

9. ANEXOS.

9.1 Anexo I. Autoridades que tienen competencia en el control de plaguicidas en México (Semarnap – Serie 4, 1996).

Fases del ciclo de vida de los plaguicidas	Instancias responsables del control
Importación y exportación	Sagar / Ssa / Semarnap / Secofi / SHCP
Registro	Ssa
Proceso y uso	Semarnap / Ssa / Sagar /STPS
Almacenamiento	Ssa / SCT / STPS
Transporte	SCT / Ssa / Semarnap / STPS
Comercialización	Sagar / Secofi / Ssa
Efectividad biológica	Sagar
Establecimiento de Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas (LMR) en productos agrícolas	Ssa / Sagar
Control de residuos en productos agrícolas	Ssa *
Control de calidad de plaguicidas	Ssa *
Descargas al agua	Semarnap / Ssa / Sedemar
Emisiones al aire	Semarnap / Ssa
Residuos peligrosos	Semarnap / Ssa / SCT
Ambiente laboral	STPS / Ssa
Salud ocupacional	Ssa / STPS
Salud ambiental	Ssa
Saneamiento e impacto ambiental	Semarnap

* Control de calidad sanitaria para prevenir el riesgo.

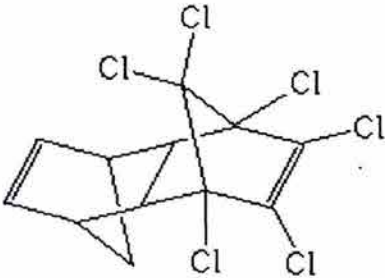
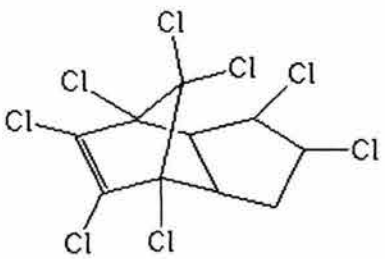
9.2 Anexo II. Normas Oficiales Mexicanas vigentes y en proyecto (Semarnap – Serie 4, 1996).


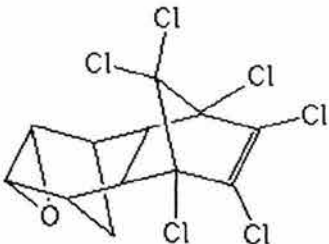
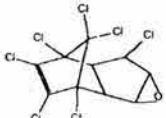
Ecológicas	
Clave de la norma	Descripción
NOM – 090 – ECOL - 1994	Establece los requisitos para el diseño y construcción de los receptores de agroquímicos.
NOM – 052 – ECOL - 1993	Establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.
Sanitarias	
NOM – 044 – SSA1 - 1993	Establece los requisitos para contener plaguicidas. Envase y embalaje.
NOM – 045 – SSA1 - 1993	Establece el etiquetado de plaguicidas. Productos para uso agrícola, forestal, pecuario, de jardinería, urbano e industrial.
NOM – 046 – SSA1 - 1993	Establece el etiquetado de plaguicidas. Productos para uso doméstico.
Proyecto NOM – 058 – SSA1 - 1993	Se establecen los requisitos sanitarios para los establecimientos que fabrican y formulan plaguicidas y fertilizantes y que procesan sustancias tóxicas o peligrosas.
Proyecto NOM – 043 – SSA1 - 1993	Esta relacionada con el almacenamiento de plaguicidas.
Zoosanitarias	
NOM – 023 – ZOO - 1994	Establece el análisis de residuos de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados en grasa de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves por cromatografía de gases.
Fitosanitarias	
Proyecto NOM – 032 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la realización de estudios de efectividad biológica de plaguicidas agrícolas y su dictamen técnico.
Proyecto NOM – 033 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales interesadas en comercializar plaguicidas agrícolas.
Proyecto NOM – 034 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales interesadas en la fabricación, formulación, formulación por maquila, formulación y/o maquila e importación de plaguicidas agrícolas.
Proyecto NOM – 050 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para efectuar ensayos de campo para el establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas en productos agrícolas.
Proyecto NOM – 051 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el manejo de plaguicidas agrícolas cuya adquisición y aplicación está sujeta a la recomendación escrita de un profesional fitosanitario.
Proyecto NOM – 053 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para realizar la difusión de la publicidad de insumos fitosanitarios.
Proyecto NOM – 057 – FITO – 1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para emitir el dictamen de análisis de residuos de plaguicidas.

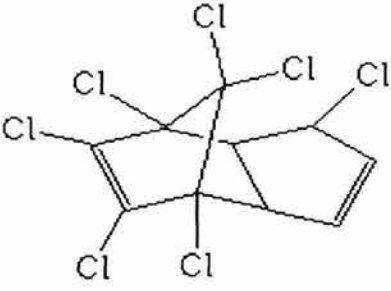
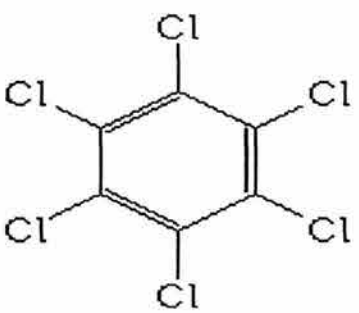
Fitosanitarias	
Clave de la norma	Descripción
Proyecto NOM	Esta relacionada con el manejo y disposición final para envases de plaguicidas y fertilizantes.
Higiene y Seguridad Industrial	
NOM – 005 – STPS - 1993	Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias inflamables y combustibles (DOF, 03-Dic-93).
NOM – 006 – STPS – 1993	Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para la estiba y destiba de los materiales en los centros de trabajo (DOF, 03-Dic-93).
NOM – 009 – STPS – 1993	Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo (DOF, 13-Jun-94).
NOM – 010 – STPS - 1993	Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, almacenen o manejen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral (DOF, 08-Jul-94).
Transporte	
NOM – 002 – SCT2 - 1994	Listado de las sustancias y materiales peligrosos más usualmente transportados (DOF, 30-Oct-95).
NOM – 003 – SCT2 – 1993	Características de las etiquetas de envases y embalajes destinadas al transporte de materiales y residuos peligrosos (DOF, 21-Ago-95).
NOM – 004 – SCT2 – 1994	Sistema de identificación de unidades destinadas al transporte terrestre de materiales y residuos peligrosos (DOF, 13-Sept-95).
NOM – 005 – SCT2 – 1994	Información de emergencia para el transporte terrestre de sustancias, materiales y residuos peligrosos (DOF, 24-Jul-95).
NOM – 006 – SCT2 – 1994	Aspectos básicos para la revisión ocular diaria de la unidad destinada al autotransporte de materiales y residuos peligrosos (DOF, 23-Ago-95).
NOM – 007 – SCT2 – 1994	Marcado de envases y embalajes destinados al transporte de sustancias y residuos peligrosos (DOF, 18-Ago-95).
NOM – 010 – SCT2 – 1994	Disposiciones de compatibilidad y segregación para el almacenamiento y transporte de sustancias, materiales y residuos peligrosos (DOF, 25-Sept-95).
NOM – 011 – SCT2 – 1994	Condiciones para el transporte de las sustancias, materiales y residuos peligrosos en cantidades limitadas (DOF, 25-Sept-95).
NOM – 019 – SCT2 – 1994	Disposiciones generales para la limpieza y control de remanentes de sustancias y residuos peligrosos en las unidades que transportan materiales y residuos peligrosos (DOF, 25-Sept-95).
NOM – 028 – SCT2 – 1994	Disposiciones especiales para los materiales y residuos peligrosos de la clase 3 líquidos inflamables transportados (DOF, 4-Oct-95).
NOM – 043 – SCT2 - 1995	Documento de embarque de sustancias, materiales y residuos peligrosos (DOF, 23-Oct-95).

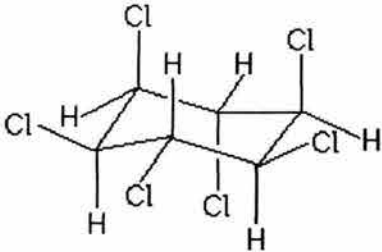
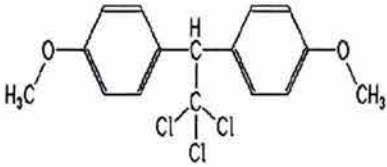
9.3 Anexo III. Propiedades de los plaguicidas organoclorados analizados en el presente trabajo (ATSDR, 2003).

9.3.1 Propiedades físicas, químicas y usos (ATSDR, 2003).

Nombre	Nombre científico y fórmula química	Propiedades físicas y químicas	Usos
<p>Aldrin [309-00-2]</p>	 <p>1, 2, 3, 4, 10, 10 - Hexacloro - 1, 4, 4a, 5, 8, 8a - hexahidro - 1, 4:5, 8 - dimetanonaftaleno</p>	<p>Peso molecular 364.93. En su estado puro es un polvo blanco con leve olor a sustancia química y el comercial de menor pureza tiene color canela. No se encuentra en estado natural en el ambiente y se degrada rápidamente por oxidación a dieldrin. Es muy soluble en solventes orgánicos e insoluble en agua.</p>	<p>Desde los años 50's hasta los 70's se utilizó ampliamente como pesticida en cosechas, tales como, maíz y algodón. Debido a preocupaciones acerca del daño al ambiente y posiblemente sobre la salud pública, la EPA prohibió su uso en 1974, excepto para controlar termitas. En 1987, la EPA lo prohibió completamente.</p>
<p>Clordano [57-74-9].</p>	 <p>1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 8 - Octacloro - 2, 3, 3a, 4, 7, 7a - hexahidro - 4, 7 - metano - 1H - indeno</p>	<p>Peso molecular 409.80. Es un líquido espeso con un color que varía entre incoloro y ámbar, y su olor es levemente irritante. El grado técnico no es una sola sustancia química, sino que es una mezcla de clordano puro con otros compuestos similares, este no se encuentra de forma natural en el medio ambiente. Insoluble en agua; miscible con solventes alifáticos e hidrocarburos aromáticos.</p>	<p>Es un compuesto manufacturado que se utilizó como plaguicida en los Estados Unidos entre 1948 y 1988. Se usó hasta 1983 en cosechas de maíz, frutas cítricas, en prados y jardines domésticos. Debido a inquietudes acerca del posible daño al medio ambiente y a la salud pública, la EPA prohibió todos sus usos en 1983, excepto aquellos para controlar termitas. En 1988 la EPA prohibió todo tipo de uso.</p>

Nombre	Nombre científico y fórmula química	Propiedades físicas y químicas	Usos
<p>DDT [50-29-3]</p>	 <p>1, 1' - (2, 2, 2 - Tricloroetilideno) - bis [4 - clorobenceno]</p>	<p>Peso molecular 354.50. Sólido blanco cristalino sin olor o sabor. Prácticamente insoluble en agua y soluble en piridina, dioxano. Y solventes orgánicos.</p>	<p>Fue utilizado ampliamente en el pasado para controlar insectos en agricultura e insectos que transmiten enfermedades como la malaria. Su uso en los Estados Unidos de Norteamérica se prohibió en 1972 por el daño causado a la vida silvestre, pero aún se usa en algunos países.</p>
<p>Dieldrín [50-67-1].</p>	 <p>3, 4, 5, 6, 9, 9 - Hexacloro - 1a, 2, 2a, 3, 6, 6a, 7, 7a - octahidro - 2, 7:3, 6 - dimetanonaf [2, 3- b] oxireno</p>	<p>Peso molecular 380.93. En su estado puro es un polvo blanco con leve olor a sustancia química y en su estado comercial es de menor pureza y tiene color canela. Es un insecticida con estructura química similar al aldrin. Prácticamente insoluble en agua y moderadamente soluble en solventes orgánicos comunes excepto en metanol.</p>	<p>Desde los 1950's hasta 1970, se utilizó ampliamente como pesticida en cosechas tales como maíz y algodón. Debido a preocupaciones acerca de daño al ambiente y posiblemente sobre la salud pública, la EPA prohibió todos sus usos en 1974, excepto para controlar termitas. En 1987, la EPA prohibió todos los usos.</p>
<p>Epóxido de heptacloro [1024-57-3].</p>	 <p>1, 4, 5, 6, 7, 8, 8 - Heptacloro - 4, 7 - metano - 3a, 4, 7, 7a - tetrahidro - 2, 3 - epoxi - 4, 6-metanoindeno.</p>	<p>Es un polvo blanco y un producto de degradación del heptacloro. Es más probable encontrarlo en el medio ambiente que el heptacloro.</p>	<p>Se utilizó ampliamente como pesticida en cosechas tales como maíz y algodón.</p>

Nombre	Nombre científico y fórmula química	Propiedades físicas y químicas	Usos
<p>Heptacloro [76-44-8]</p>	 <p>1, 4, 5, 6, 7, 8, 8 - Heptacloro - 3a, 4, 7, 7a - tetrahidro - 4, 7 - metanoindeno.</p>	<p>Peso molecular 373.35. Es una sustancia química manufacturada que no se encuentra en forma natural en el ambiente. En su estado puro es un polvo blanco de olor similar al alcanfor. La forma de menor pureza es de color canela. Soluble en acetona, benceno, CCl₄, ciclohexanona, alcohol, xileno.</p>	<p>Se utilizó ampliamente en el pasado para matar insectos en viviendas, edificios y en cosechas de alimentos, especialmente maíz. Su uso disminuyó en la década de los 70's y dejó de utilizarse en el año 1988.</p>
<p>Hexaclorobenceno [118-74-1].</p>	 <p>Perclorobenceno</p>	<p>Peso molecular 284.80. Es un sólido blanco cristalino que no se encuentra en forma natural en el medio ambiente. Se forma como producto secundario durante la manufactura de otras sustancias químicas. Pequeñas cantidades pueden también producirse durante la incineración de basura municipal. Insoluble en agua y soluble en benceno, cloroformo y éter.</p>	<p>Se utilizó ampliamente como pesticida hasta 1965 para proteger semillas de cebollas, sorgo, trigo y otros granos contra hongos. También se utilizó en la manufactura de fuegos artificiales, municiones y goma sintética. En la actualidad, no tiene uso comercial en los Estados Unidos de Norteamérica.</p>

Nombre	Nombre científico y fórmula química	Propiedades físicas y químicas	Usos
Lindano [319-84-6]	 <p data-bbox="440 878 707 944">1, 2, 3, 4, 5, 6 - Hexaclorociclohexano</p>	<p data-bbox="804 337 1091 1249">Peso molecular 290.85. Forma parte de los hexaclorociclohexanos (HCH) que son un grupo de sustancias químicas manufacturadas que no se encuentran en forma natural en el ambiente. Existen ocho formas químicas (isómeros) del HCH. Las más comunes son alfa - , beta - , gama - y delta -HCH. El más común de los isómeros es el gama-HCH, el cual se conoce como lindano y es un sólido blanco con olor ligeramente rancio. Soluble en acetona, benceno, cloroformo, éter, etanol e insoluble en agua.</p>	<p data-bbox="1107 337 1392 1104">Se utilizó como insecticida en frutas y cosechas de hortalizas (incluso en tabaco y hortalizas cultivadas en invernaderos) y en plantaciones forestales (incluso árboles de navidad). Aún se utiliza en ungüentos para tratar piojos en la cabeza y el cuerpo; además en tratamiento para sarna. No se ha producido en los Estados Unidos de Norteamérica Desde 1977; aunque se sigue importando y formulando en este país.</p>
Metoxicloro [72-43-5].	 <p data-bbox="362 1556 777 1632">1, 1' - (2, 2, 2 - Tricloroetilideno) - bis [4- metoxibenceno]</p>	<p data-bbox="804 1259 1091 1684">Peso molecular 345. Es una sustancia química manufacturada que no se encuentra naturalmente en el ambiente. En su estado puro es un polvo amarillo pálido con leve olor rancio a frutas. Prácticamente insoluble en agua y soluble en alcohol.</p>	<p data-bbox="1107 1259 1392 1723">Es utilizado como insecticida contra moscas, mosquitos, cucarachas, larvas de ácaros y una gran variedad de otros insectos. Se usa en cosechas agrícolas y ganado y en graneros, depósitos de cereales, jardines domésticos y en animales domésticos.</p>

9.3.2 Como se encuentran en el medio ambiente y medios de exposición (ATSDR, 2003).

Plaguicida	Como se encuentra en el medio ambiente	Medios de exposición
Aldrin	<ul style="list-style-type: none"> *La luz solar y las bacterias lo transforman a dieldrin. *En el suelo y el agua se degrada muy lentamente. *Las plantas incorporan y almacenan aldrin y dieldrin del suelo. *Es almacenado en la grasa y abandona el cuerpo muy lentamente. 	<ul style="list-style-type: none"> *Está en todas partes en el ambiente, aunque en niveles muy bajos. *Ingesta de pescados o mariscos de lagos o arroyos contaminados con esta sustancia, o tubérculos, productos lácteos, o carnes contaminadas. *En el aire, agua de superficie, o el suelo cerca de sitios de desechos pueden contener niveles más altos. *Habitando viviendas que alguna vez fueron tratadas para controlar termitas.
Clordano	<ul style="list-style-type: none"> *Entró al medio ambiente cuando se utilizó como plaguicida en cosechas, en prados y jardines y para controlar termitas. *Se adhiere firmemente a partículas en la superficie del suelo por lo que es difícil que entre al agua subterránea. *Puede permanecer en el suelo por más de 20 años. *La mayor parte se evapora cuando se encuentra en el suelo. *Se degrada muy lentamente. *No se disuelve muy fácilmente en agua. *Se acumula en los tejidos de peces, aves y mamíferos. 	<ul style="list-style-type: none"> *En cosechas cultivadas en terrenos que lo contienen. *En pescados o mariscos de aguas contaminadas. *Respirando aire contaminado o tocando tierra cerca de viviendas tratadas para controlar termitas. *Por contacto de la piel con tierra cerca de vertederos o de sitios de desechos peligrosos.

Plaguicida	Como se encuentra en el medio ambiente	Medios de exposición
DDT	<ul style="list-style-type: none"> * Entró al ambiente cuando se usó como pesticida; todavía entra al ambiente por su uso actual en algunos países. * Se degrada rápidamente en el aire por la luz solar. La mitad de lo que existe en el aire se degrada en 2 días o menos. * Se adhiere firmemente al suelo; la mayor parte se degrada lentamente a DDE y DDD por microorganismos; la mitad de lo que se encuentra en el suelo se degradará entre 2-15 años, dependiendo del tipo de suelo. Sólo una pequeña cantidad pasará a través del suelo al agua subterránea. * No se disuelve fácilmente en agua. * Se acumula en plantas y en tejidos grasos de peces, aves, y otros animales. 	<ul style="list-style-type: none"> * En alimentos contaminados, tales como hortalizas, carne, pescado y aves. * Los niños pueden estar expuestos al ser alimentados con leche materna de madres que han estado expuestas. * Respirando o tragando partículas del suelo cerca de sitios de desechos o vertederos que lo contienen.
Dieldrin	<ul style="list-style-type: none"> * En el suelo y el agua se degrada muy lentamente. * Las plantas lo incorporan y almacenan del suelo. * Se almacena en la grasa y abandona el cuerpo muy lentamente. 	<ul style="list-style-type: none"> * Está en todas partes en el ambiente, aunque en niveles muy bajos. * Alimentos como pescados o mariscos de lagos o arroyos contaminados, tubérculos, productos lácteos, o carnes contaminadas. * En el aire, agua de superficie, o el suelo cerca de sitios de desechos pueden contener niveles más altos. * Viviendas que alguna vez fueron tratadas para controlar termitas.

Plaguicida	Como se encuentra en el medio ambiente	Medios de exposición
Epóxido de heptacloro	<ul style="list-style-type: none"> * Se disuelve con mayor facilidad que el heptacloro. * Puede permanecer en el suelo y en el agua por muchos años. * Los animales lo transforman partiendo del heptacloro. 	<ul style="list-style-type: none"> * Cosechas cultivadas en terrenos que contienen heptacloro. * Pescado, productos lácteos y carnes grasosas de animales expuestos al heptacloro en sus alimentos. * Respirando aire, tomando agua o por contacto de la piel con tierra cerca de sitios de desechos o de vertederos. * A través de la leche materna de mujeres expuestas a altos niveles.
Heptacloro	<ul style="list-style-type: none"> * No se disuelve fácilmente en agua. * Se adhiere fuertemente a partículas en el suelo y se evapora lentamente. * Los animales lo transforman a epóxido. * Las plantas pueden incorporarlo si se encuentra en la tierra. * Se acumula en los tejidos de peces y el ganado. 	<ul style="list-style-type: none"> * Cosechas cultivadas en terrenos que lo contienen. * En alimentos como pescado, productos lácteos y carnes grasosas de animales expuestos al plaguicida en sus alimentos. * Aire, agua o por contacto de la piel con tierra cerca de sitios de desechos o de vertederos. * A través de la leche materna de mujeres expuestas a altos niveles de esta sustancia.
Hexaclorobenceno	<ul style="list-style-type: none"> * Puede permanecer en el ambiente por mucho tiempo. Se degrada muy lentamente. * Se adhiere firmemente al suelo. La mitad en el suelo desaparecerá en un periodo de 3-6 años. * No se disuelve fácilmente en el agua. Una vez en el agua, se adhiere a sedimentos y se deposita en el fondo. La mitad en el agua superficial desaparecerá entre 3-6 años. Puede acumularse en peces y en otros organismos acuáticos. 	<ul style="list-style-type: none"> * Ingeriendo bajos niveles en alimentos contaminados (por ejemplo, pescado, carne, leche, productos lácteos) o en agua contaminada. * Respirando niveles bajos en aire contaminado. * Comiendo o tocando tierra contaminada. * Los bebés pueden estar expuestos al ser alimentados con leche materna contaminada por exposición de las madres. * Trabajando en una fábrica que lo usa.

Plaguicida	Como se encuentra en el medio ambiente	Medios de exposición
Lindano	<ul style="list-style-type: none"> *En el aire, los HCH pueden estar presentes como vapor o adheridos a pequeñas partículas de tierra o polvo. *Puede permanecer en el aire hasta por 17 semanas. *Partículas con HCH adheridos pueden ser removidas del aire por la lluvia. *En el suelo, sedimento y agua, es degradado a sustancias menos peligrosas por algas, hongos y bacterias. *Los isómeros de los HCH se degradan rápidamente en agua; el lindano no permanece en el agua por más de 30 días. *No se sabe cuanto tiempo permanecen en el suelo los isómeros de los HCH. *Puede acumularse en tejidos grasos de peces. 	<ul style="list-style-type: none"> *En Alimentos contaminados, tales como hortalizas, carne y leche. *En Aire contaminado en o cerca de fábricas donde se manufacturan productos que contienen HCH. *A través de la piel cuando se aplica como loción o shampoo para el control de piojos y sarna. *En agua contaminada o respirando aire contaminado cerca de sitios de residuos o vertederos.
Metoxicloro	<ul style="list-style-type: none"> *La mayoría entra al ambiente cuando se aplica a cosechas agrícolas, bosques y al ganado. *En el suelo se adhiere firmemente a partículas. *No se disuelve fácilmente en el agua. Una vez en el agua, se adhiere a sedimentos y se deposita en el fondo; se degrada lentamente en el aire, el agua y el suelo por la luz solar y organismos microscópicos. 	<ul style="list-style-type: none"> *La mayoría de la gente no está expuesta con regularidad. *Rara vez se encuentran niveles bajos en los alimentos, pero generalmente no se detecta en el aire o en el agua. *Al utilizar pesticidas que lo contienen para jardines domésticos o en animales domésticos puede estar expuesta a niveles mayores que lo normal en el aire o por contacto con él a través de la piel.

9.3.3 Toxicidad humana y niveles máximos permisibles por agencias internacionales (ATSDR, 2003).

Plaguicida	Toxicidad humana	Límites máximos permitidos por agencias internacionales.
Aldrin	<p>★Precaución: El envenenamiento puede ocurrir por ingestión, inhalación y absorción de la piel.</p> <p>★Toxicidad aguda: Puede provocar daños renales, temblores, convulsiones, fallas respiratorias e incluso la muerte.</p> <p>★Toxicidad crónica: La exposición prolongada puede causar daños hepáticos.</p> <p>La IARC ha determinado que no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos. La EPA ha determinado que probablemente es carcinógeno en seres humanos.</p>	<p>★La EPA limita la cantidad en agua potable a 0.001 ppm.</p> <p>★La OSHA y el NIOSH establecen un promedio máximo de 0.25 mg/m³ de aire en el trabajo durante una jornada de 8 horas diarias (40 horas a la semana).</p> <p>★La FDA regula los residuos en alimentos crudos, la cantidad máxima permisible es de 0.1 ppm, dependiendo del tipo de alimento.</p>
Clordano	<p>★Precaución: El envenenamiento puede ocurrir por ingestión, inhalación ó absorción percutánea.</p> <p>★Toxicidad aguda: Puede provocar irritabilidad, convulsiones y depresión.</p> <p>★Toxicidad crónica: La exposición prolongada puede causar cambios degenerativos en el hígado.</p> <p>La IARC ha determinado que no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.</p>	<p>★La EPA recomienda que los niños no tomen agua con más de 60 ppb por periodos de más de un día; también ha establecido un límite de 2 ppb en el agua potable.</p> <p>★La FDA limita la cantidad y de sus productos de degradación en la mayoría de las frutas y hortalizas a menos de 300 ppb y a menos de 100 ppb en grasa animal y pescados.</p> <p>★La OSHA, la NIOSH y la ACGIH han establecido un límite máximo en el trabajo de 0.5 mg/m³ durante una jornada de 8 horas diarias (40 horas semanales). Estas agencias también aconsejan que se evite el contacto con los ojos y la piel, ya que una buena cantidad de clordano puede penetrar al organismo de esta manera.</p>

Plaguicida	Toxicidad humana	Límites máximos permitidos por agencias internacionales.
DDT	<p>*Precaución: El envenenamiento puede ocurrir por ingestión ó por absorción a través de la piel o tracto respiratorio.</p> <p>*Toxicidad aguda: Provoca dolor de cabeza y músculos, convulsiones, fallas respiratorias o cardiacas e incluso la muerte.</p> <p>*Toxicidad crónica: La exposición prolongada puede causar daños hepáticos, dermatitis, coma e incluso la muerte.</p> <p>La IARC ha determinado que posiblemente puede producir cáncer en seres humanos.</p>	<p>*La OSHA estable un límite de 1 mg/m³ de aire en el trabajo durante una jornada de 8 horas diarias (40 horas a la semana).</p>
Dieldrin	<p>*Precaución: Se absorbe rápidamente por la piel. Causa dolor de cabeza, náusea, vomito, temblores, coma y falla respiratoria.</p> <p>La IARC ha determinado que no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.</p> <p>La EPA ha determinado que probablemente es carcinógeno en seres humanos.</p>	<p>*La EPA limita la cantidad en agua potable a 0.002 ppm.</p> <p>*La OSHA y la NIOSH establecen un promedio máximo de 0.25 mg/m³ en el trabajo durante una jornada de 8 horas diarias, (40 horas a la semana).</p> <p>*La FDA regula los residuos en alimentos crudos, la cantidad máxima permisible es de 0.1 ppm, dependiendo del tipo de alimento.</p>
Epóxido de heptacloro	<p>*Precaución: Es tóxico en seres humanos y en animales y puede dañar el sistema nervioso.</p> <p>*Toxicidad crónica: La administración de niveles muy elevados por poco tiempo produce alteraciones graves del hígado.</p>	<p>*La EPA recomienda un máximo de 2.78 ppt en agua potable o en mariscos.</p> <p>*La FDA regula el límite máximo en mariscos comestibles a 300 ppb, y en grasa de animales comestibles a 200 ppb.</p>

Plaguicida	Toxicidad humana	Límites máximos permitidos por agencias internacionales.
Heptacloro	<p>*Precaución: El envenenamiento puede ocurrir por ingestión, inhalación ó por absorción en la piel.</p> <p>*Toxicidad crónica: La exposición prolongada puede causar daños hepáticos.</p> <p>La IARC ha determinado que no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.</p>	<p>*La EPA recomienda un máximo de 2.78 ppt en agua potable o en mariscos.</p> <p>*La FDA regula el límite máximo en mariscos comestibles a 300 ppb, y en grasa de animales comestibles a 200 ppb.</p> <p>*La OSHA y la ACGIH recomiendan un nivel máximo de 0.5 mg/m³ en el trabajo durante una jornada de 8 horas diarias(40 horas semanales).</p>
Hexaclorobenceno	<p>*Toxicidad crónica: La ingestión prolongada puede causa porfiria cutánea.</p> <p>La IARC y la EPA han determinado que posiblemente puede producir cáncer en seres humanos.</p>	<p>*La EPA ha establecido que la concentración máxima permisible en agua potable es 0.001 ppm.</p>
Lindano	<p>*Precaución: El envenenamiento puede ocurrir por ingestión ó por absorción percutánea.</p> <p>*Toxicidad aguda: Provoca dolor de cabeza, náusea, vomito, diarrea, temblores, convulsiones, colapso circulatorio.</p> <p>*Toxicidad crónica: La exposición prolongada puede causar daños hepáticos.</p>	<p>* La EPA ha establecido un límite máximo en el agua potable de 0.2 ppm.</p> <p>*La OSHA, NIOSH y la ACGIH recomiendan un nivel máximo de 0.5 mg/m³ de aire del trabajo durante una jornada de 8 horas diarias (40 horas semanales). Estas agencias aconsejan evitar contacto con los ojos y la piel ya que esto puede representar una ruta de exposición considerable.</p>
Metoxicloro	<p>*Precaución: ligeramente irritante a la garganta y piel.</p> <p>*Toxicidad crónica: La ingestión prolongada puede causar insuficiencia renal.</p> <p>La IARC y la EPA han determinado que no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.</p>	<p>* La EPA limita la cantidad en el agua potable a 0.04 ppm y en productos agrícolas en un rango de 1-100 ppm.</p> <p>*La OSHA establece un límite de exposición permisible (PEL) de 15 mg/m³ en el trabajo durante una jornada de 8 horas diarias.</p>

Notas:

ACGIH Conferencia Americana de Sanitarios Industriales de Gobierno

EPA Agencia para la Protección del Ambiente

FDA Administración de Drogas y Alimentos

IARC Agencia internacional para la Investigación del Cáncer

NIOSH Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional

OSHA Administración de Salud y Seguridad Ocupacional

9.3.4 Toxicidad (D_{L50} , IDA) (Cicoplafest, 1995).

Plaguicida	Estado físico	Vía de absorción	D_{L50} mg / Kg	IDA mg / Kg
Aldrín	Sólido	Oral	39	0.006
Clordano	Líquido	Oral	460	0.001
DDT	Sólido	Oral	113	0.02
Dieldrín	Sólido	Oral	38	0.006
Epóxido de heptacloro	Sólido	Oral	62	0.006
Heptacloro	Sólido	Oral	40	0.006
Hexaclorobenceno	Sólido	Oral	10000	0.0006
Lindano	Sólido	Oral	100	0.001
Metoxicloro	Sólido	Oral	6000	N.D

Notas:

D_{L50} = Dosis letal media. IDA = Ingestión diaria admisible en mg / Kg de peso corporal.

9.4 Anexo IV. Teorías del proceso cromatográfico (Willard H., 1981).

El proceso cromatográfico aparentemente, simple en práctica, es en realidad una compleja unión de fenómenos como hidrodinámica, cinética, termodinámica, química de superficie y difusión.

Hasta la fecha se han propuesto muchas teorías, que incluyen complejos modelos matemáticos para poder explicar el comportamiento de los solutos en las columnas cromatográficas. Las más estudiadas son: la Teoría de los Platos Teóricos (Martín y Syngé), la Teoría Cinética (Van Deemter, Zuiderweg, Klinkenberg y Sjenitzer) y la Teoría desarrollada (Golay) para columnas capilares.

9.4.1 Teoría de los platos teóricos (Willard H., 1981).

Según esta teoría una columna cromatográfica está constituida por una serie de platos que contienen una fase estacionaria. Supone que el volumen de fase estacionaria en cada plato es constante, que el volumen de fase móvil es constante de plato a plato, que en cada plato las dos fases están en equilibrio y que el valor del coeficiente de distribución es constante e independiente de la concentración del soluto.

La principal desventaja de esta teoría es la falta de conexión entre la eficiencia de la columna cromatográfica, el tamaño de la partícula, la difusión, la velocidad de flujo y la temperatura. La otra desventaja es que utiliza un modelo basado en muchas suposiciones.

La ecuación que rige esta teoría es:

$$N = 16 (t_R / W)^2$$

Donde:

- N Número de platos teóricos
 t_R Tiempo ajustado para la elución del centro del pico
 W Ancho en la base del pico

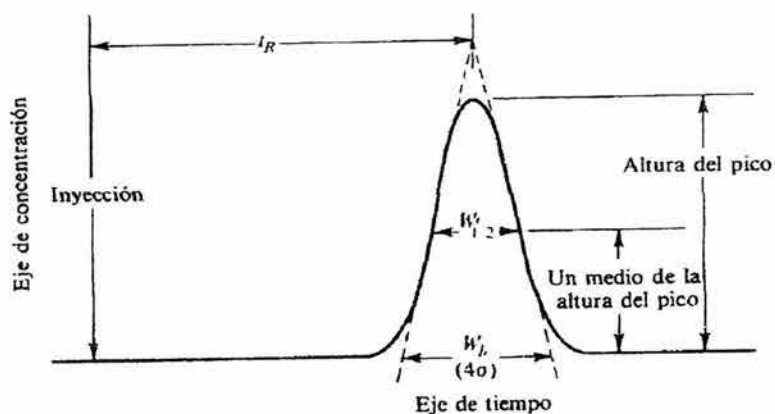


Figura 25. Evaluación de una banda cromatográfica para la eficiencias de la Columna (Willard H., 1981).

9.4.2 Teoría cinética (Willard H., 1981).

Esta teoría considera el proceso cromatográfico en función de los factores cinéticos que intervienen en él.

Siendo estos factores:

1. Las múltiples trayectorias que toma un soluto durante su movimiento (migración) a través del empaque de la columna, provocando variaciones en la velocidad del flujo.
2. La difusión axial o longitudinal del soluto en la fase móvil.
3. La cinética de la resistencia a la transferencia de masa entre la fase móvil y la estacionaria.

La ecuación que rige esta teoría es:

$$HEPT \text{ ó } H = A + (B/\mu) + (C\mu)$$

Donde:

HEPT	Altura equivalente de plato teórico
A	Ensanchamiento del pico
B	Difusión longitudinal
C	Resistencia a la transferencia de masa
μ	Velocidad lineal promedio de la fase móvil = Longitud de columna (cm) / tr aire (seg)
HEPT bajo	Eficiencia alta de la columna. Puede ser calculado si el número efectivo de platos es conocido.
HEPT bajo = Longitud de la columna (L) / Número efectivo de platos (N)	

9.5 Anexo V A. Guía de referencia para varios detectores para Cromatografía de Gases (Praxair, s.f).

Método Analítico / Detector	Gases de Arrastre y de Purga	Rango de Sensibilidad Analítica			Tipos de Análisis y consideraciones de las impurezas
		100 ppt - 100 ppb	100 ppb - 100 ppm	100 ppm - 100 %	
TCD (Detector de Conductividad Térmica)	N ₂	N/A	5.5-TG	5.0- UH	Detector Universal Los contaminantes atmosféricos pueden oxidar el filamento detector, permitiendo la elevación de picos negativos y la reducción de la sensibilidad
	He	N/A	5.5-TG	5.0- UH	
	H ₂	N/A	6.0-RS	5.0- UH	
	Ar	N/A	6.0-RS	5.0- UH	
FID (Detector de Ionización de Flama) Arrastre Gases de Combustión	He	N/A	5.5-TG	5.0-UH ó 4.6-Z	Compuestos Orgánicos Los hidrocarburos en gases de arrastre o de combustión pueden elevar el ruido en la línea de base y reducir la sensibilidad del detector. El oxígeno y el agua ocasionan el deterioro de la columna y afectan el tiempo de retención en separaciones críticas.
	N ₂	N/A	5.5-TG	5.0-UH ó 4.8-Z	
	Ar	N/A	6.0-RS	5.0-UH ó 4.8-Z	
	H ₂	N/A	6.0-RS	5.0-UH ó 4.5-Z	
	40% H ₂ en He 40 % H ₂ en N ₂ Aire	UH UH N/A	UH UH 0.0-HC	Estándar Comercial Estándar Comercial 0.0-HC	
ECD (Detector de Captura de Electrones)	He	5.5-EC	5.5-EC/5.5-TG	5.5- TG	Compuestos Halogenados La respuesta del detector y la vida de la columna son reducidas por el oxígeno y el agua. Los hidrocarburos y los halógenos pueden producir ruido en la línea de base, picos negativos y contaminación en la tubería.
	N ₂	5.5-EC	5.5-EC/5.5-TG	5.5-TG	
	P-5	5.5-EC	5.5- EC	5.5-EC	
	P-10	5.5-EC	5.5-EC	5.5-EC	
HID (Detector de Ionización de Helio)	He	5.5-TG	5.5-TG	5.5-TG	Detector Universal Las impurezas de la atmósfera pueden ocasionar ruido en la línea de base, polaridad en la señal y reducir la estabilidad y sensibilidad del detector.
	He Purga	5.0-UH	5.0-UH	N/A	
FPD (Detector Fotométrico de Flama) Arrastre Gases de Combustión	He	5.5-TG	5.5-TG	5.0-UH	Compuestos de azufre o fósforo Los compuestos orgánicos pueden producir ruido en la línea de base y el bióxido de carbono puede suprimir la respuesta del detector.
	N ₂	5.5-TG	5.5-TG	5.0-UH	
	H ₂	6.0-RS	4.5-Z	5.0-UH	
	Aire	0.0-HC	0.0-HC	0.0-Z	
PID (Detector de Fotoionización)	He	5.5-TG	5.5-TG	N/A	Detector Selectivo - Dependiente de Fuente UV Los hidrocarburos ocasionan ruido en la línea de base y el oxígeno puede suprimir la respuesta del detector.
	N ₂	5.5-TG	5.5-TG	N/A	
GC/MS (Espec.de Masas)	He	5.5-TG	5.5-TG	5.0-UH	Todos los Compuestos Las imprecisiones analíticas pueden resultar de cualquier impureza coincidiendo con picos cuantificados.
	N ₂	5.5-TG	5.5-TG	5.0-UH	
	Ar	6.0-RS	6.0 RS/5.0- UH	5.0-UH	
AL800 (Detector de Descarga de Alta Frecuencia)	Ar	6.0-RS	6.0-RS	N/A	H ₂ , O ₂ , N ₂ , CH ₄ , CO, CO ₂ en Argón
DID (Detector de Descarga de Ionización)	He	6.0-RS	6.0-RS	N/A	Detector Universal Igual que HID
	He Purga	5.0-UH	5.0-UH	N/A	
USD (Detector Ultrasónico)	Ar	6.0-RS	5.0-UH	5.0-UH ó 4.8-Z	Detector Universal Igual que HID
	He	6.0-RS	5.0-UH	5.0-UH ó 4.6-Z	

9.5 Anexo V B. Mezclas de Instrumentación (Praxair, s.f).

Código de Producto Praxair	Descripción de Productos	Aplicaciones de las Mezclas	Tipo de Cilindro	CGA	Regulador Recomendado
IG HEHY8.5-K	8.5 % H ₂ en He	Gas de Arrastre para Detectores de Conductividad Térmica G-C	K		SERIE 400: No Corrosivos
IG FI 1-K	40% H ₂ en He (FID Fuel)	Fuel Gas FID para Detectores de Ionización de Flama- GC	K	350	SERIE 300: No Corrosivos SERIE 200: No Corrosivos
IG FI 2-K	40% H ₂ en He-UH (FID Fuel) (THC 0.1 ppm)		K	350	
IG FI 3-K	40% H ₂ en N ₂ (FID Fuel)		K	350	
IG FI 4-K	40% H ₂ en N ₂ -UH (FID Fuel) (THC 0.1 ppm)		K	350	
IG ECD1-AS	P-5 5% CH ₄ en Argón-ECD (P-5)	Composición de Gas para Detectores de Captura de Electrones - GC	AS	350	
IG ECD2-AS	P-10 10% CH ₄ en Argón-ECD (P-10)		AS	350	
IG P10-K	10% CH ₄ en Argón (P-10)	XRF (Fluorescencia X)	K	350	
IG XRF2-K	1.3% n-C ₄ H ₁₀ en He	XRF (Fluorescencia X)	K	350	
IG XRF3-K	0.95% i-C ₄ H ₁₀ en He	XRF (Fluorescencia X)	K	350	
IG XRF4-K	1.5% C ₃ H ₈ en He	XRF (Fluorescencia X)	K	350	
IG P5-K	P-5 5% CH ₄ en Ar (P-5)	Gas de Arrastre para Contadores Proporcionales	K	350	
IG P10-K	P-10 10% CH ₄ en Ar (P-10)	Gas de Arrastre para Contadores Proporcionales	K	350	
IG NC3-K	10% CO ₂ en Ar	Contador Nuclear	K	350	
IG NC4-K	1.3% n-C ₄ H ₁₀ en He (Quench Gas)	Quench Gas	K	350	
IG NC5-K	0.95% i-C ₄ H ₁₀ en He	Gas de acarreo para Geiger-Muller	K	350	
G NC6-K	5% Ar en H ₂	Spark Emission	K	350	

9.6 Anexo VI. Tipos de inyección para inyector capilar (Greenfield Chrompage12e, 2004).

Los tipos de inyección existentes son:

1. Inyección On - column ó directa.
3. Inyección Split
3. Inyección Splitless

9.6.1 On – column ó directa (Greenfield Chrompage12e, 2004).

En este tipo de inyección la muestra es inyectada con una jeringa hipodérmica a través de un septum de goma (o hule) de silicón autosellante, a un inserto de vidrio (liner) contenido en un bloque metálico, donde es vaporizada y arrastrada hacia la columna.

9.6.1.1 Principio (Greenfield Chrompage12e, 2004).

Después de la introducción de la muestra en el liner, el gas de acarreo barre toda la muestra vaporizada hacia la columna. Normalmente se requieren velocidades de flujo de aproximadamente 4 mL / min o superiores para barrer la muestra en un período de tiempo corto. Solamente columnas entre 0.45 y 0.53 mm de diámetro interno son capaces de operar con estas velocidades sin sufrir pérdidas significativas de eficiencia. Velocidades de flujo muy por debajo de 4 mL / min causan una pobre transferencia de la muestra desde el inyector a la columna provocando un significativo ensanchamiento del pico.

No existen limitaciones en el tipo de muestras compatibles con estos inyectores. La concentración más baja de muestra está gobernada por la sensibilidad del detector. La concentración de muestra más alta está limitada por la capacidad de la columna o el detector, por lo tanto las columnas entre 0.45 y 0.53 mm de diámetro interno son las más utilizadas con este tipo de inyector.

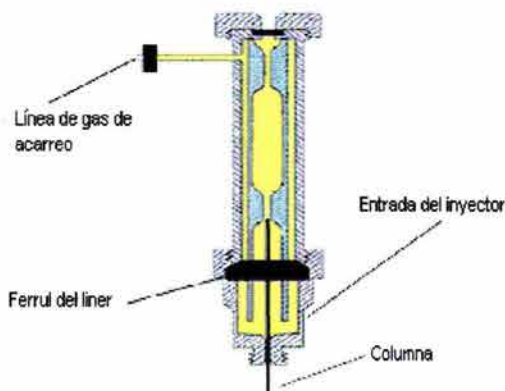


Figura 26. Inyector On – column (Gas Chromatography, 2002).

9.6.2 Split (Greenfield Chrompage12e, 2004).

Los inyectores split son utilizados para muestras concentradas ya que sólo una pequeña fracción de la muestra inyectada se introduce en la columna. Estos inyectores son muy eficientes, con ellos se obtienen los mejores anchos de pico. La combinación de alta eficiencia y cantidades pequeñas de muestra lo hacen ideal para columnas con diámetros pequeños; sin embargo, son compatibles con todos los tamaños y tipos de columnas. Esta técnica impide la sobrecarga de la columna, pero desperdicia una porción significativa de la muestra.

9.6.2.1 Principio (Greenfield Chrompage12e, 2004).

Un alto volumen de gas de acarreo entra por la parte superior o frente del inyector. Un pequeño volumen sale por la línea de la purga de septa, si existe alguna. El resto del gas fluye a través del liner y abandona el inyector por dos puntos. Un pequeño volumen del gas de acarreo entra a la columna (1 - 4 mL/min) mientras que un volumen mucho más grande (10 - 100 mL/min) sale por la línea del split. En el momento de la vaporización los vapores de la muestra son mezclados con el gas de acarreo y transportados con el gas. Esto resulta en que solo una pequeña fracción de la muestra vaporizada entra a la columna, siendo la mayor parte descartada, vía la línea del venteo (salida del split). La muestra es efectivamente dividida en dos fracciones, siendo la más pequeña la que alcanza la columna.

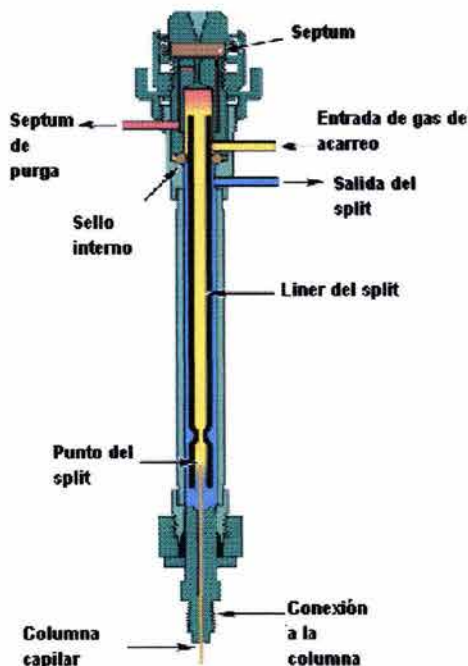


Figura 27. Inyector split (Gas Chromatography, 2002).

La cantidad de división está descrita por la relación de split. Esta relación de split es la relación del flujo del gas acarreador de la columna y la salida al venteo (o salida del split). Relaciones típicas de split van desde 1:10 hasta 1:100. Esta relación de split permite estimar la magnitud de la división de la muestra. Entre más baja sea la relación, mayor es la cantidad de muestra que entra en la columna.

Esta relación se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{Flujo en el venteo del split} / \text{Flujo de la columna} = \text{Relación de Split}$$

Por ejemplo:

Si el flujo por columna = 2 mL / min y el flujo por el venteo = 100 mL / min

La relación de split = $100 / 2 = 50$

Por lo tanto la relación es de 1:50; es decir se introduce aproximadamente 1 / 50 (2%) de la muestra en la columna.

9.6.3 Splitless (Greenfield Chrompage12e, 2004).

La inyección splitless se utiliza para muestras de baja concentración o de nivel de trazas. La mayor parte de la muestra se introduce en la columna. Normalmente se obtienen picos más anchos que los que se obtienen con inyección split (especialmente para los picos que eluyen primero).

9.6.3.1 Principio (Greenfield Chrompage12e, 2004).

En efecto, los inyectores splitless son los mismos que los inyectores split excepto por las condiciones de operación. El gas acarreador entra por la parte alta o por el frente del inyector. Un pequeño volumen de gas fluye por la línea de purga de la septa, si alguna está presente. En el momento de la inyección de la muestra, la velocidad de flujo del gas acarreador es la misma que la del flujo de la columna (1 – 4 mL / min). Este modo usualmente se llama salida de purga. Después de la vaporización de la muestra, los vapores se mezclan con el gas de acarreo.

El único camino disponible para el gas acarreador es la columna ya que la línea de split está cerrada. Debido al bajo flujo del gas acarreador, la transferencia de la muestra a la columna es muy lenta. Esto resulta en una eficiencia muy baja para el inyector splitless. Entre 15 a 60 seg. Después de la inyección, el inyector entra de manera automática en el modo de purga. A este tiempo se le denomina tiempo de activación de la purga. La línea del split se abre a este tiempo y una alta velocidad de flujo pasa a través del inyector. Cualquier residuo de la muestra que permanezca en el inyector será barrido hacia la línea del split y eliminada; es decir, el inyector es purgado de los residuos de muestra.

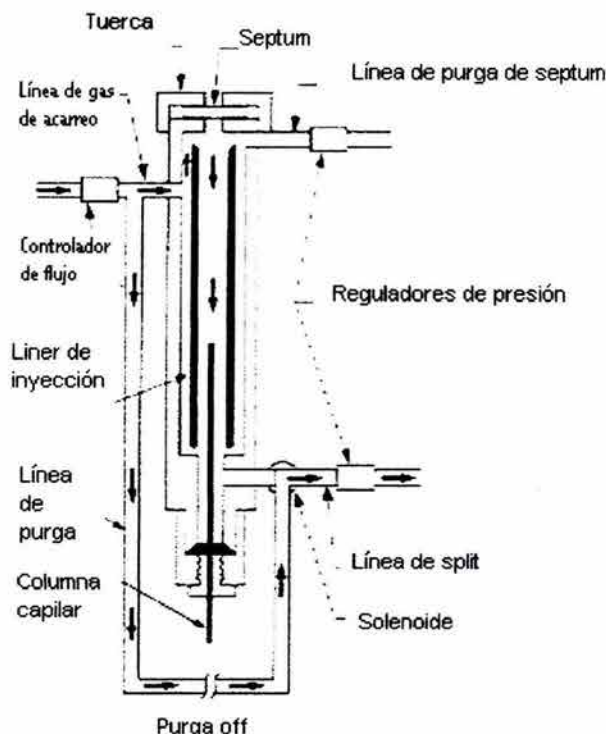


Figura 28. Inyector splitless purga off (Gas Chromatography, 2002).

9.7 Anexo VII. Análisis cualitativo (Blanco G., s.f.).

El análisis cualitativo nos indica lo que existe en la muestra.

Los procedimientos para identificación de los picos cromatográficos se pueden dividir en tres categorías.

1. Identificación cromatográfica por datos de retención o por serie homóloga (índices de retención de Kovacs).
2. Identificación no cromatográfica (análisis clásicos, identificación por adición de estándar, formación de derivados o sustracción de un componente)
3. Identificación con técnicas auxiliares: U.V (Espectrometría de Ultravioleta), I.R (Espectrometría de Infrarrojo), MS (Espectrometría de Masas), RMN (Resonancia magnética nuclear).

Cuando el análisis cualitativo se determina por identificación cromatográfica, se debe tomar en cuenta lo siguiente:

1. La identificación de componentes con certeza es difícil con detectores estándar.
2. La cromatografía de gases capilar ofrece una mayor probabilidad porque la resolución mejora con respecto a una columna empacada.
3. Picos anchos pueden esconder la presencia de dos o más componentes.

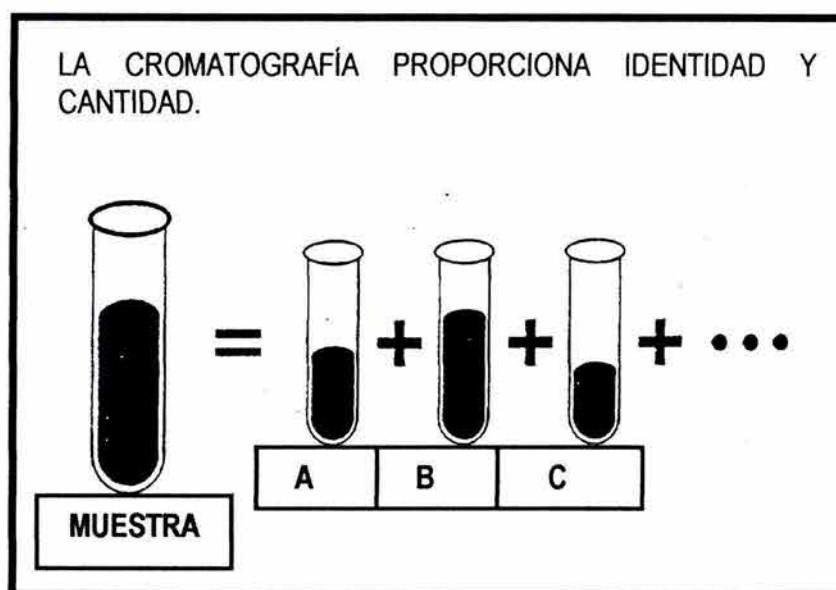


Figura 29. Análisis cualitativo (Blanco G., s.f.).

9.7.1 Técnicas analíticas suplementarias (Willard H., 1981).

Diferentes compuestos pueden tener idénticos o muy cercanos tiempos de retención. La Cromatografía de Gases se puede acoplar a otras técnicas analíticas, entre las que se encuentran:

1. Espectroscopía de infrarrojo
2. Espectrometría de Masas
3. Resonancia magnética nuclear
4. Espectroscopía de ultravioleta - visible

Las técnicas que producen "Huella Dactilar" para los componentes como Espectrometría de masas son mejores.

9.8 Anexo VIII. Análisis cuantitativo (Willard H., 1981).

El análisis cuantitativo se basa en el hecho de que la cantidad de determinada sustancia es directamente proporcional al área del pico obtenido en el cromatograma y que corresponde a dicha sustancia.

Existen varios métodos para cuantificar un pico cromatográfico, siendo estos:

1. Porcentaje de área o altura.
2. Normalización.
3. Estandarización externa.
4. Estandarización interna.

Debido a que en el presente trabajo se utiliza la estandarización externa, este tipo de cuantificación se detalla a continuación.

9.8.1 Estándar externo (Willard H., 1981).

Cuando el volumen de la muestra se conoce con frecuencia se utiliza este tipo de método de cuantificación, el cual tiene la ventaja de que sólo se necesitan medir las áreas de los picos de interés. Es un requisito que cada vez se inyecte la misma cantidad de muestra. Los estándares necesarios deben analizarse bajo las mismas condiciones de operación de la muestra. Las concentraciones porcentuales se obtienen por medio del cálculo de la proporción entre el volumen de cada componente de interés y el tamaño de la muestra. En la práctica, se preparan las soluciones estándar de los componentes de interés y se inyectan en el cromatógrafo.

A continuación se describe la metodología a seguir:

1. Preparar una curva de calibración de los estándares de interés.
2. Inyectar estándares de concentración conocida.
3. Graficar Área vs. Concentración.
4. Inyectar la muestra problema.
5. Interpolar el área del analito de interés en la curva de calibración.
6. Reportar la concentración del analito en la muestra problema.

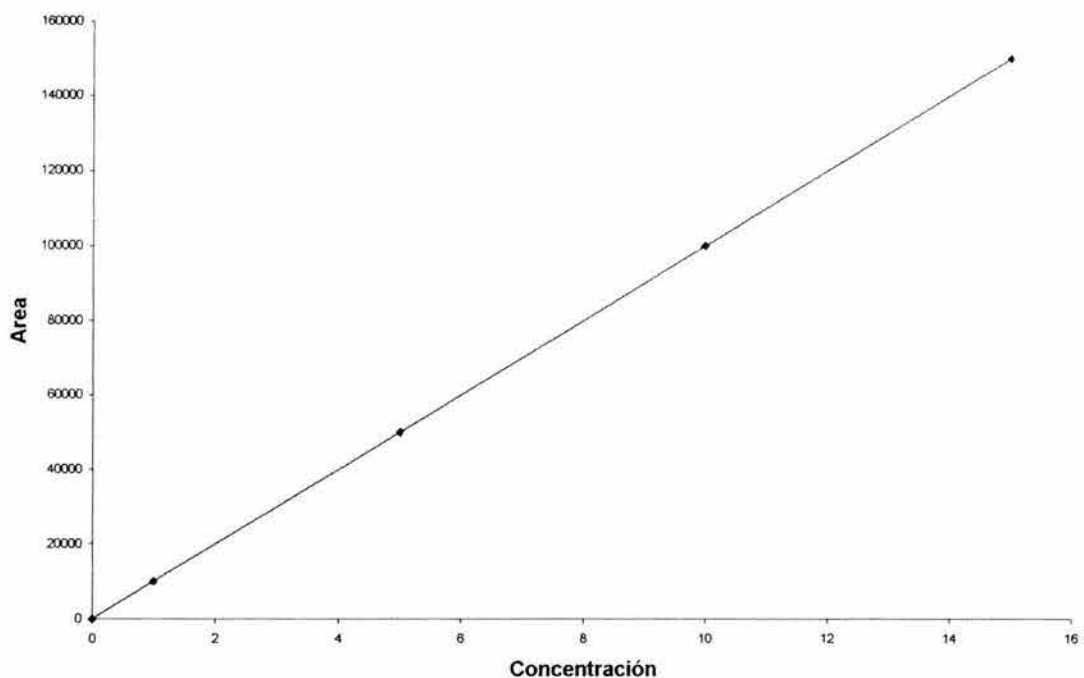
Curva de calibración (Estándar Externo)

Figura 30. **Curva de calibración estándar externo** (Blanco G., s.f).

9.8.2 Errores comunes de cuantificación (Willard H., 1981).

1. Diferencia en respuesta entre detectores.
 2. Contaminación de la muestra.
 3. Pérdida de muestra durante la inyección.
 4. Mala curva de calibración.
 5. Errores de cálculo.
- Técnica de muestreo pobre.
Los promedios y desviaciones estándar deben realizarse para expresar precisión.

